

Журнал медико-биологических исследований. 2024. Т. 12, № 1. С. 32–39.
Journal of Medical and Biological Research, 2024, vol. 12, no. 1, pp. 32–39.

Научная статья
УДК 591.423+616.233
DOI: 10.37482/2687-1491-Z176

Влияние кромогликата натрия и интрамуральных ганглиев на экспрессию гена *TNFR1* в бронхах крыс с овальбумин-индуцированной бронхиальной астмой

Валентина Михайловна Кирилина* ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4679-7767>
Ольга Евгеньевна Смирнова* ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0045-3814>
Любовь Евгеньевна Блажевич* ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8306-738X>
Петр Михайлович Маслюков** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6230-5024>

*Петрозаводский государственный университет
(Петрозаводск, Россия)

**Ярославский государственный медицинский университет
(Ярославль, Россия)

Аннотация. Цель исследования – изучение экспрессии гена *TNFR1* в бронхах крыс с овальбумин-индуцированной бронхиальной астмой с учетом влияния интрамуральных метасимпатических ганглиев и стабилизации мембран тучных клеток кромогликатом натрия. В этой работе под экспрессией гена понимается накопление мРНК в тканях бронхов. Экспрессия гена и рецептора *TNFR1* играет большую роль в развитии аллергической астмы. По данной причине для анализа был выбран именно ген *TNFR1*. **Материалы и методы.** Образцы бронхов крыс популяции Вистар исследовались при помощи метода полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Для опытов брались бронхи с ганглиями (в области бифуркаций) и бронхи без ганглиев (прямые участки). Забор материала проводился у 7 групп крыс: с овальбумин-индуцированной бронхиальной астмой (6 групп) и контрольных животных (1 группа). Для лечения трех групп крыс с моделью астмы применялся стабилизатор мембран тучных клеток – кромогликат натрия. **Результаты.** Установлено, что экспрессия мРНК, кодирующей *TNFR1*, увеличивается у крыс в случае развития бронхиальной астмы. В образцах бронхов с ганглиями экспрессия гена *TNFR1* была выше, чем в препаратах бронхов без ганглиев. Под воздействием стабилизатора мембран тучных клеток кромогликата натрия она снижалась. На основании полученных результатов сделано предположение о том, что тучные клетки и нейроны интрамурального ганглия оказывают довольно выраженное влияние на экспрессию гена *TNFR1*.

Ключевые слова: *TNFR1*, тучные клетки, интрамуральный ганглий, кромогликат натрия, овальбумин-индуцированная астма, фактор некроза опухоли-α.

Ответственный за переписку: Ольга Евгеньевна Смирнова, адрес: 185910, г. Петрозаводск, просп. Ленина, д. 33; e-mail: smmirnova.olga@yandex.ru

Для цитирования: Влияние кромогликата натрия и интрамуральных ганглиев на экспрессию гена *TNFR1* в бронхах крыс с овальбумин-индуцированной бронхиальной астмой / В. М. Кирилина, О. Е. Смирнова, Л. Е. Блажевич, П. М. Маслюков // Журнал медико-биологических исследований. – 2024. – Т. 12, № 1. – С. 32-39. – DOI: 10.37482/2687-1491-Z176.

Original article

Effect of Sodium Cromoglycate and Intramural Ganglia on *TNFR1* Gene Expression in the Bronchi of Rats with Ovalbumin-Induced Bronchial Asthma

Valentina M. Kirilina* ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4679-7767>

Olga E. Smirnova* ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0045-3814>

Lubov E. Blazhevich* ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8306-738X>

Petr M. Maslyukov** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6230-5024>

*Petrozavodsk State University
(Petrozavodsk, Russian Federation)

**Yaroslavl State Medical University
(Yaroslavl, Russian Federation)

Abstract. The **purpose** of this article was to study *TNFR1* gene expression in the bronchi of rats with ovalbumin-induced bronchial asthma, taking into account intramural metasymphatic ganglia and the stabilization of mast cell membranes with sodium cromoglycate. In this paper, gene expression refers to the accumulation of mRNA in bronchial tissues. Expression of the *TNFR1* gene and receptor plays an important role in the development of allergic asthma. For this reason, the *TNFR1* gene was chosen for the analysis. **Materials and methods.** Bronchial samples from Wistar rats were studied using real-time polymerase chain reaction. For experiments, bronchi with ganglia (in the bifurcation area) and bronchi without ganglia (straight sections) were taken. The material was collected from 7 groups of rats: with ovalbumin-induced bronchial asthma (6 groups) and control animals (1 group). Mast cell stabilizer sodium cromoglycate was used to treat 3 groups of rats with simulated asthma. **Results.** It was found that the expression of mRNA encoding *TNFR1* increases in rats developing bronchial asthma. In bronchial samples with ganglia, *TNFR1* gene expression was higher than in bronchial preparations without ganglia. Under the influence of sodium cromoglycate, *TNFR1* gene expression decreased. Based on the results obtained, it was suggested that mast cells and neurons of the intramural ganglion have a rather pronounced effect on *TNFR1* gene expression.

Keywords: *TNFR1*, mast cells, intramural ganglion, sodium cromoglycate, ovalbumin-induced asthma, tumour necrosis factor- α .

For citation: Kirilina V.M., Smirnova O.E., Blazhevich L.E., Maslyukov P.M. Effect of Sodium Cromoglycate and Intramural Ganglia on *TNFR1* Gene Expression in the Bronchi of Rats with Ovalbumin-Induced Bronchial Asthma. *Journal of Medical and Biological Research*, 2024, vol. 12, no. 1, pp. 32–39. DOI: 10.37482/2687-1491-Z176

Corresponding author: Olga Smirnova, address: prosp. Lenina 33, Petrozavodsk, 185910, Russian Federation; e-mail: mmirnova.olga@yandex.ru

Передача сигналов цитокина – фактора некроза опухоли- α (tumour necrosis factor- α , TNF- α) – на соответствующие рецепторы играет центральную роль в развитии патологических состояний, в т. ч. бронхиальной астмы [1, 2]. В данной статье особое внимание уделяется гену, нуклеотидная последовательность которого кодирует рецептор *TNFR1*, принимающий сигналы от вышеупомянутого цитокина. Актуальность исследования гена *TNFR1* обусловлена не только его существенной ролью в патогенезе астмы, но и недостаточной изученностью степени его экспрессии с учетом интрамуральных метасимпатических ганглиев, а также влияния тучных клеток [3, 4].

В тканях кровеносных сосудов экспрессия гена *TNFR1* вызывает апоптоз эндотелиальных клеток, в миокарде – способствует развитию фиброза [5], в отношении нервной системы – к воспалению нервной ткани и демиелинизации волокон [3].

На иммунных клетках, обнаруженных в слизистом слое респираторных путей и крови человека, отмечалось увеличение экспрессии гена *TNFR1* и содержания рецептора *TNFR1* в условиях нейтрофильной и ненейтрофильной астмы [6, 7]. M. Berry et al. показали, что экспрессия *TNFR1* в моноцитах пациентов с астмой возрастала по сравнению с контрольной группой [8].

G.S. Whitehead et al. и A Proudfoot et al. в опытах на нокаутных мышах по гену *TNFR1* с моделью овальбумин-индуцированной астмы доказали, что повышенная экспрессия *TNFR1* играет решающую роль в аллергическом воспалении посредством рекрутирования эозинофилов, нейтрофилов и других лимфоцитов. При устранении эффектов *TNFR1* последовательно уменьшались и такие признаки воспаления, как количество иммунных клеток и цитокинов в лаважной жидкости и тканях легких [9, 10].

Большую роль в патогенезе аллергической бронхиальной астмы играют тучные клетки. Они опосредуют иммунную реакцию на местном уровне, выделяя в процессе дегрануляции медиаторы, цитокины, протеазы, лейкотриены.

Среди провоспалительных цитокинов тучных клеток одна из центральных патогенетических функций принадлежит TNF- α . Цитокин способствует увеличению продукции слизи в бронхах, рекрутированию иммунных клеток и цитокинов в слизистый слой нижних дыхательных путей [9], воспалению в нервной ткани и демиелинизации волокон [3]. Можно предположить, что повышение содержания TNF- α в тканях нижних дыхательных путей будет оказывать стимулирующее влияние на экспрессию *TNFR1*.

Патогенез бронхиальной астмы нельзя рассматривать без учета нервных структур. Интрамуральные метасимпатические ганглии представляют собой группы нейронов, объединенных в автономную систему регуляции стенки трахеи или бронхов. Прежде всего, они регулируют тонус гладкой мышцы, определяя тем самым величину просвета трахеи или бронха. Также нейроны ганглия способны участвовать в нейрогенном воспалении, выделяя медиаторы – нейрокинин А и субстанцию Р. Эти соединения, воздействуя на мембраны тучных клеток, вызывают их дегрануляцию с запуском аллергической реакции. В процессе дегрануляции выделяются все факторы воспаления, в т. ч. TNF- α . Таким образом, можно выдвинуть гипотезу, что интрамуральный метасимпатический ганглий будет оказывать стимулирующее влияние на экспрессию генов, кодирующих цитокиновые рецепторы, в частности на экспрессию гена *TNFR1*. Подтверждение или опровержение данной гипотезы будет представлять собой новый научный результат.

Таким образом, эффекты, связанные с экспрессией гена *TNFR1*, разнообразны. Однако исследований экспрессии этого гена в условиях модели овальбумин-индуцированной астмы с учетом такой важной структуры, как интрамуральный метасимпатический ганглий, в доступных источниках не обнаружено. Поскольку нейроны ганглия потенциально способны принимать участие в формировании нейрогенного воспаления [11], можно ожидать влияния

ганглия на экспрессию гена *TNFR1*, кодирующего соответствующий цитокиновый рецептор. Также не найдены работы о роли стабилизации мембран тучных клеток в регуляции экспрессии этих генов (в т. ч. гена *TNFR1*), в то время как именно с дегрануляции тучных клеток начинается воспаление в условиях аллергической астмы. Выделяемые тучными клетками продукты, в т. ч. TNF- α , могут оказывать существенное влияние на запуск экспрессии гена *TNFR1*.

В связи с вышеизложенным целью данного исследования было изучение экспрессии гена *TNFR1* в бронхах крыс с моделируемой астмой с учетом влияния интрамуральных метасимпатических ганглиев и стабилизации мембран тучных клеток кромогликатом натрия.

Материалы и методы. В данном исследовании применялась модель овалбумин-индуцированной бронхиальной астмы. Изучение экспрессии гена *TNFR1* в бронхах крыс проводилось при помощи метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени.

Схема эксперимента. Исследование проведено на крысах популяции Вистар. Все животные были разделены на несколько групп: контрольная (крысы без бронхиальной астмы, получала физиологический раствор, $n = 10$), опытная 1 (крысы с овалбумин-индуцированной бронхиальной астмой, забор материала бронхов проводился через 72 ч после последней ингаляции овалбумином, $n = 10$), опытная 2 (крысы с овалбумин-индуцированной бронхиальной астмой, забор биоматериала – через 10 дней после последней ингаляции овалбумином, $n = 10$), опытная 3 (крысы с овалбумин-индуцированной бронхиальной астмой, забор биоматериала – через 17 дней после последней ингаляции овалбумином, $n = 10$). Параллельно были сформированы группы, аналогичные группам № 1–3 ($n = 10$ для каждой), но в них крысы получали лечение в виде инъекций и ингаляций кромогликата натрия (Aventis Pharma Holmes Chapel, Великобритания). От каждого животного брались препараты бронхов с ган-

глиями и без. Места расположения ганглиев в респираторном тракте крысы описаны в работе С.Н. Chiang [12]. С целью получения образцов респираторного тракта производилась декаптация с предварительной анестезией (рекомендации по эвтаназии экспериментальных животных, Европейская комиссия) [13].

Модель бронхиальной астмы. Крыс сенсibilizировали инъекциями овалбумина (Sigma-Aldrich, Германия; 0,5 мг овалбумина на 1 мл физиологического раствора). Каждому животному раствор овалбумина вводили по 0,1 мл в области шеи, спины, ступней, паха подкожно и 0,5 мл – внутрибрюшинно (всего 1 мл). Инъекции овалбумина делали на 1, 14 и 21-й день. Параллельно с инъекциями проводили ингаляцию овалбумином (1 г овалбумина на 100 мл физиологического раствора) при помощи небулайзера (Omron, NE C29-E, Россия) на 14, 16, 18, 21 и 24-й день в течение 30 мин. Последняя ингаляция раствором овалбумина осуществлялась за 72 ч до эвтаназии животных. Несенсibilizированной группе вводили физиологический раствор внутрибрюшинно в качестве контроля.

Успешность моделирования бронхиальной астмы на животных определялась по состоянию нижних дыхательных путей. В тканях бронхов оценивали количество эозинофилов и тучных клеток, слизистого компонента в просветах малых бронхов, тучных клеток в лаважной жидкости [14].

Молекулярно-генетические методы. Для определения уровня транскриптов гена *TNFR1* были использованы образцы тканей бронхов с ганглиями и без них. При помощи PureZOL™ RNA Isolation Reagent (Bio-Rad, США) выделяли тотальную рибонуклеиновую кислоту (РНК). Уровень экспрессии гена оценивали с помощью ПЦР в режиме реального времени на приборе LightCycler®96 (Roche, Швейцария). В качестве референсного гена использовали *18S rRNA* (18S рибосомальная РНК). Анализ значений производили с помощью софта LightCycler®96 для прибора LightCycler®96 (Roche).

Протокол ПЦР: денатурация комплементарной дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) в течение 5 мин при 95 °С; 35 циклов: денатурация при 95 °С – 15 с; отжиг при 60 °С – 15 с; элонгация при 72 °С – 15 с.

Нуклеотидные последовательности и ПЦР-фрагментов для гена *TNFR1* (*TNFRSF1B*) следующие: 5'СААGСААGAGTCACAGCGGA 3' (exon 9), 5'GGTTAGCATCTGGGTCTCCC 3' (exon 10). Размер ПЦР-фрагмента – 193 нуклеотидных пар [15].

Для всех данных вычисляли среднее значение (*M*), стандартное отклонение (*SD*), определяли достоверность различий по *t*-критерию Стьюдента [16]. Критический уровень значимости различий – $p < 0,05$.

Результаты. В бронхах с ганглиями опытных групп экспрессия гена рецептора *TNFR1* по сравнению контрольной группой статистически значимо возрастала ($p < 0,05$). В бронхах без ганглиев наблюдалось аналогичное повышение экспрессии. Между препаратами бронхов с ганглиями и без них в опытных группах 1 и 2 наблюдалось статистически значимое различие (в бронхах с ганглиями экспрессия гена выше ($p < 0,05$) – см. таблицу).

Кромогликат натрия оказывал подавляющее действие на экспрессию гена *TNFR1* в бронхах с ганглиями у экспериментальных животных. Во всех случаях отличия в экспрессии матричной РНК (мРНК) между животными, получавшими кромогликат натрия и не получавшими его, были статистически значимы ($p < 0,05$). В образцах бронхов без ганглиев кромогликат натрия так же снижал экспрессию гена *TNFR1* во всех группах животных ($p < 0,05$) (см. таблицу).

Обсуждение. Сравнивая содержание мРНК, кодирующей *TNFR1*, в бронхах с ганглиями и без них, отметим, что в опытных группах 1 и 2 этот показатель выше в бронхах с ганглиями, чем в бронхах без них. Можно сделать предположение, что присутствие нейронов интрамурального ганглия способствовало более интенсивному синтезу мРНК, кодирующей рецептор *TNFR1*. Мы связываем это с тем, что в условиях воспалительного процесса нейро-тучно-клеточные отношения проявляются более выражено. В нормальных физиологических условиях влияние тучных клеток на расположенные рядом нервные структуры минимально, поскольку дегрануляция мастоцитов крайне незначительна. В условиях овалбумин-индуцированной брон-

Содержание матричной РНК, отображающее уровень экспрессии гена *TNFR1* в препаратах бронхов контрольных крыс, крыс с овалбумин-индуцированной бронхиальной астмой без лечения и при лечении кромогликатом натрия ($M \pm SD$), отн. ед.

Content of matrix RNA reflecting the expression level of the *TNFR1* gene in bronchial preparations of control rats, rats with ovalbumin-induced bronchial asthma without treatment and treated with sodium cromoglycate ($M \pm SD$), relative units

Вариант эксперимента	Контрольная группа	Опытные группы		
		1	2	3
<i>Бронхи с ганглиями</i>				
Астма без лечения	0,48±0,04	2,61±0,06*^#	2,23±0,06*^#	0,71±0,05*^#
Астма с лечением		2,34±0,04	1,67±0,05	0,46±0,06
<i>Бронхи без ганглиев</i>				
Астма без лечения	0,34±0,05	2,05±0,07*#	1,66±0,06*#	0,53±0,05*#
Астма с лечением		1,76±0,02	0,85±0,05	0,37±0,04

Примечание. Установлены статистически значимые отличия по *t*-критерию Стьюдента ($p < 0,05$): * – от контрольной группы; ^ – от бронхов без ганглиев; # – от животных с бронхиальной астмой, получавших лечение.

химальной астмы содержимое их гранул выделяется в межклеточное пространство и возбуждает нервные структуры при помощи гистамина, серотонина, аденозина. Таким образом, в условиях воспаления развивается более высокая активность нейронов ганглия.

Под влиянием хромогликата натрия происходило снижение синтеза мРНК, кодирующей рецептор *TNFR1*. Можно сделать вывод, что стабилизация мембран тучных клеток хромогликатом приводила к уменьшению экспрессии гена *TNFR1* в бронхах. В бронхах без ганглиев данный эффект был выражен сильнее. Результаты исследования позволяют предположить, что выделяемые тучными клетками цитокины, прежде всего сам TNF- α , способствуют экспрессии гена *TNFR1* в бронхах крыс, а нейроны ганглия усиливают экспрессию гена *TNFR1*. Частично подтверждает данное предположение публикация А.Н. Кучера, который полагает, что нейрональные медиаторы и активные вещества (например, субстанция P, вазоактивный интестинальный полипептид) воздействуют

на рецепторы тучных клеток, вызывая их дегрануляцию. Выделившиеся в ходе этого процесса медиаторы, цитокины, лейкотриены способствуют усилению воспалительной реакции, синтезу цитокиновых рецепторов [11].

Доказательство того, что нейроны способны воспринимать тучноклеточный цитокин TNF- α , представлено в статье I. Papazian et al., где установлено наличие *TNFR1* на нейронах мышечей [17]. Также полученные нами результаты могут найти подтверждение в работе S. Kumar et al. (показали увеличение экспрессии рецептора *TNFR1* в легких мышечей при воспалении, вызванном ингаляцией частиц дизельного выхлопа) [18].

Таким образом, проведенное нами исследование продемонстрировало увеличение экспрессии гена *TNFR1* в бронхах крыс с овальбумин-индуцированной бронхиальной астмой. Его результаты свидетельствуют о том, что тучные клетки и нейроны интрамурального ганглия оказывают выраженное влияние на экспрессию гена *TNFR1*.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Вклад авторов: Кирилина В.М. – идея работы, планирование эксперимента, написание статьи; Блажевич Л.Е., Смирнова О.Е. – сбор и обработка данных, написание статьи; Маслюков П.М. – редактирование статьи.

Authors' contributions: V.M. Kirilina proposed the research idea, planned the experiment and contributed to writing the manuscript; L.E. Blazhevich and O.E. Smirnova collected and processed data and contributed to writing the manuscript; P.M. Maslyukov edited the manuscript.

Список литературы

1. Ahmad S., Azid N.A., Boer J.C., Lim J., Chen X., Plebanski M., Mohamud R. The Key Role of TNF-TNFR2 Interactions in the Modulation of Allergic Inflammation: A Review // Front. Immunol. 2018. Vol. 9. Art. № 2572. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02572>
2. Bystrom J., Clanchy F.I., Taher T.E., Mangat P., Jawad A.S., Williams R.O., Mageed R.A. TNF- α in the Regulation of Treg and Th17 Cells in Rheumatoid Arthritis and Other Autoimmune Inflammatory Diseases // Cytokine. 2018. Vol. 101. P. 4–13. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2016.09.001>
3. Probert L. TNF and Its Receptors in the CNS: The Essential, the Desirable and the Deleterious Effects // Neuroscience. 2015. Vol. 302. P. 2–22. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.06.038>
4. Pasparakis M., Vandenabeele P. Necroptosis and Its Role in Inflammation // Nature. 2015. Vol. 517. P. 311–320. <https://doi.org/10.1038/nature14191>

5. Kleinbongard P., Schulz R., Heusch G. TNF- α in Myocardial Ischemia/Reperfusion, Remodeling and Heart Failure // *Heart Fail. Rev.* 2011. Vol. 16, № 1. P. 49–69. <https://doi.org/10.1007/s10741-010-9180-8>
6. Niessen N.M., Gibson P.G., Simpson J.L., Scott H.A., Baines K.J., Fricker M. Airway Monocyte Modulation Relates to Tumour Necrosis Factor Dysregulation in Neutrophilic Asthma // *ERJ Open Res.* 2021. Vol. 7, № 3. P. 00131–02021. <https://doi.org/10.1183/23120541.00131-2021>
7. Alshevskaya A., Zhukova J., Kireev F., Lopatnikova J., Evsegneeva I., Demina D., Nepomniashchikh V., Gladkikh V., Karaulov A., Sennikov S. Redistribution of TNF Receptor 1 and 2 Expression on Immune Cells in Patients with Bronchial Asthma // *Cells.* 2022. Vol. 11, № 11. Art. № 1736. <https://doi.org/10.3390/cells11111736>
8. Berry M.A., Hargadon B., Shelley M., Parker D., Shaw D.E., Green R.H., Bradding P., Brightling C.E., Wardlaw A.J., Pavord I.D. Evidence of a Role of Tumor Necrosis Factor α in Refractory Asthma // *N. Engl. J. Med.* 2006. Vol. 354, № 7. P. 697–708. <https://doi.org/10.1056/nejmoa050580>
9. Whitehead G.S., Thomas S.Y., Shalaby K.H., Nakano K., Moran T.P., Ward J.M., Flake G.P., Nakano H., Cook D.N. TNF Is Required for TLR Ligand-Mediated but Not Protease-Mediated Allergic Airway Inflammation // *J. Clin. Invest.* 2017. Vol. 127, № 9. P. 3313–3326. <https://doi.org/10.1172/jci90890>
10. Proudfoot A., Bayliff A., O’Kane C.M., Wright T., Serone A., Bareille P.J., Brown V., Hamid U.I., Chen Y., Wilson R., Cordy J., Morley P., de Wildt R., Elborn S., Hind M., Chilvers E.R., Griffiths M., Summers C., McAuley D.F. Novel Anti-Tumour Necrosis Factor Receptor-1 (TNFR1) Domain Antibody Prevents Pulmonary Inflammation in Experimental Acute Lung Injury // *Thorax.* 2018. Vol. 73, № 8. P. 723–730. <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2017-210305>
11. Кучер А.Н. Нейрогенное воспаление: биохимические маркеры, генетический контроль и болезни // *Бюл. сиб. медицины.* 2020. Т. 19, № 2. С. 171–181. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-2-171-181>
12. Chiang C.H. Distribution of Ganglion Neurons in the Trachea of the Rat // *Kaibogaku Zasshi.* 1993. Vol. 68, № 6. P. 607–616.
13. Close B., Banister K., Baumans V., Bernoth E.M., Bromage N., Bunyan J., Erhardt W., Flecknell P., Gregory N., Hackbarth H., Morton D., Warwick C. Recommendations for Euthanasia of Experimental Animals: Part 2 // *Lab. Anim.* 1997. Vol. 31, № 1. P. 1–32. <https://doi.org/10.1258/002367797780600297>
14. Yamaguchi M., Shibata O., Nishioka K., Makita T., Sumikawa K. Propofol Attenuates Ovalbumin-Induced Smooth Muscle Contraction of the Sensitized Rat Trachea: Inhibition of Serotonergic and Cholinergic Signaling // *Anesth. Analg.* 2006. Vol. 103, № 3. P. 594–600. <https://doi.org/10.1213/01.ane.0000229853.01875.60>
15. Yilmaz A., Onen H., Alp E., Menevse S. Real-Time PCR for Gene Expression Analysis // *Polymerase Chain Reaction / ed. by P. Hernandez-Rodriguez, A.P. Ramirez Gomez.* Intech, 2012. P. 229–254.
16. Masuda N., Mantani Y., Yoshitomi C., Yuasa H., Nishida M., Aral M., Kawano J., Yokoyama T., Hoshi N., Kitagawa H. Immunohistochemical Study on the Secretory Host Defense System with Lysozyme and Secretory Phospholipase A2 Throughout Rat Respiratory Tract // *J. Vet. Med. Sci.* 2018. Vol. 80, № 2. P. 323–332. <https://doi.org/10.1292/jvms.17-0503>
17. Papazian I., Tsoukala E., Boutou A., Karamita M., Kambas K., Iliopoulou L., Fischer R., Kontermann R.E., Denis M.C., Kollias G., Lassmann H., Probert L. Fundamentally Different Roles of Neuronal TNF Receptors in CNS Pathology: TNFR1 and IKK β Promote Microglial Responses and Tissue Injury in Demyelination While TNFR2 Protects Against Excitotoxicity in Mice // *J. Neuroinflammation.* 2021. Vol. 18, № 1. Art. № 222. <https://doi.org/10.1186/s12974-021-02200-4>
18. Kumar S., Joos G., Boon L., Tournoy K., Provoost S., Maes T. Role of Tumor Necrosis Factor- α and Its Receptors in Diesel Exhaust Particle-Induced Pulmonary Inflammation // *Sci. Rep.* 2017. Vol. 7, № 1. Art. № 11508. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-11991-7>

References

1. Ahmad S., Azid N.A., Boer J.C., Lim J., Chen X., Plebanski M., Mohamud R. The Key Role of TNF-TNFR2 Interactions in the Modulation of Allergic Inflammation: A Review. *Front. Immunol.*, 2018, vol. 9. Art. no. 2572. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02572>
2. Bystrom J., Clanchy F.I., Taher T.E., Mangat P., Jawad A.S., Williams R.O., Mageed R.A. TNF- α in the Regulation of Treg and Th17 Cells in Rheumatoid Arthritis and Other Autoimmune Inflammatory Diseases. *Cytokine*, 2018, vol. 101, pp. 4–13. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2016.09.001>

3. Probert L. TNF and Its Receptors in the CNS: The Essential, the Desirable and the Deleterious Effects. *Neuroscience*, 2015, vol. 302, pp. 2–22. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.06.038>
4. Pasparakis M., Vandenabeele P. Necroptosis and Its Role in Inflammation. *Nature*, 2015, vol. 517, pp. 311–320. <https://doi.org/10.1038/nature14191>
5. Kleinbongard P., Schulz R., Heusch G. TNF- α in Myocardial Ischemia/Reperfusion, Remodeling and Heart Failure. *Heart Fail. Rev.*, 2011, vol. 16, no. 1, pp. 49–69. <https://doi.org/10.1007/s10741-010-9180-8>
6. Niessen N.M., Gibson P.G., Simpson J.L., Scott H.A., Baines K.J., Fricker M. Airway Monocyte Modulation Relates to Tumour Necrosis Factor Dysregulation in Neutrophilic Asthma. *ERJ Open Res.*, 2021, vol. 7, no. 3, pp. 00131–02021. <https://doi.org/10.1183/23120541.00131-2021>
7. Alshevskaya A., Zhukova J., Kireev F., Lopatnikova J., Evsegneeva I., Demina D., Nepomniashchikch V., Gladkikh V., Karaulov A., Sennikov S. Redistribution of TNF Receptor 1 and 2 Expression on Immune Cells in Patients with Bronchial Asthma. *Cells*, 2022, vol. 11, no. 11. Art. no. 1736. <https://doi.org/10.3390/cells11111736>
8. Berry M.A., Hargadon B., Shelley M., Parker D., Shaw D.E., Green R.H., Bradding P., Brightling C.E., Wardlaw A.J., Pavord I.D. Evidence of a Role of Tumor Necrosis Factor α in Refractory Asthma. *N. Engl. J. Med.*, 2006, vol. 354, no. 7, pp. 697–708. <https://doi.org/10.1056/nejmoa050580>
9. Whitehead G.S., Thomas S.Y., Shalaby K.H., Nakano K., Moran T.P., Ward J.M., Flake G.P., Nakano H., Cook D.N. TNF Is Required for TLR Ligand-Mediated but Not Protease-Mediated Allergic Airway Inflammation. *J. Clin. Invest.*, 2017, vol. 127, no. 9, pp. 3313–3326. <https://doi.org/10.1172/jci90890>
10. Proudfoot A., Bayliffe A., O’Kane C.M., Wright T., Serone A., Bareille P.J., Brown V., Hamid U.I., Chen Y., Wilson R., Cordy J., Morley P., de Wildt R., Elborn S., Hind M., Chilvers E.R., Griffiths M., Summers C., McAuley D.F. Novel Anti-Tumour Necrosis Factor Receptor-1 (TNFR1) Domain Antibody Prevents Pulmonary Inflammation in Experimental Acute Lung Injury. *Thorax*, 2018, vol. 73, no. 8, pp. 723–730. <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2017-210305>
11. Kucher A.N. Neurogenic Inflammation: Biochemical Markers, Genetic Control and Diseases. *Bull. Sib. Med.*, 2020, vol. 19, no. 2, pp. 171–181. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-2-171-181>
12. Chiang C.H. Distribution of Ganglion Neurons in the Trachea of the Rat. *Kaibogaku Zasshi*, 1993, vol. 68, no. 6, pp. 607–616.
13. Close B., Banister K., Baumans V., Bernoth E.M., Bromage N., Bunyan J., Erhardt W., Flecknell P., Gregory N., Hackbarth H., Morton D., Warwick C. Recommendations for Euthanasia of Experimental Animals: Part 2. *Lab. Anim.*, 1997, vol. 31, no. 1, pp. 1–32. <https://doi.org/10.1258/002367797780600297>
14. Yamaguchi M., Shibata O., Nishioka K., Makita T., Sumikawa K. Propofol Attenuates Ovalbumin-Induced Smooth Muscle Contraction of the Sensitized Rat Trachea: Inhibition of Serotonergic and Cholinergic Signaling. *Anesth. Analg.*, 2006, vol. 103, no. 3, pp. 594–600. <https://doi.org/10.1213/01.ane.0000229853.01875.60>
15. Yilmaz A., Onen H., Alp E., Menevse S. Real-Time PCR for Gene Expression Analysis. Hernandez-Rodriguez P., Ramirez Gomez A.P. (eds.). *Polymerase Chain Reaction*. Intech, 2012, pp. 229–254.
16. Masuda N., Mantani Y., Yoshitomi C., Yuasa H., Nishida M., Aral M., Kawano J., Yokoyama T., Hoshi N., Kitagawa H. Immunohistochemical Study on the Secretory Host Defense System with Lysozyme and Secretory Phospholipase A2 Throughout Rat Respiratory Tract. *J. Vet. Med. Sci.*, 2018, vol. 80, no. 2, pp. 323–332. <https://doi.org/10.1292/jvms.17-0503>
17. Papazian I., Tsoukala E., Boutou A., Karamita M., Kambas K., Iliopoulou L., Fischer R., Kontermann R.E., Denis M.C., Kollias G., Lassmann H., Probert L. Fundamentally Different Roles of Neuronal TNF Receptors in CNS Pathology: TNFR1 and IKK β Promote Microglial Responses and Tissue Injury in Demyelination While TNFR2 Protects Against Excitotoxicity in Mice. *J. Neuroinflammation*, 2021, vol. 18, no. 1. Art. no. 222. <https://doi.org/10.1186/s12974-021-02200-4>
18. Kumar S., Joos G., Boon L., Tournoy K., Provoost S., Maes T. Role of Tumor Necrosis Factor- α and Its Receptors in Diesel Exhaust Particle-Induced Pulmonary Inflammation. *Sci. Rep.*, 2017, vol. 7, no. 1. Art. no. 11508. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-11991-7>

Поступила в редакцию 04.05.2023 / Одобрена после рецензирования 26.10.2023 / Принята к публикации 01.11.2023.
Submitted 4 May 2023 / Approved after reviewing 26 October 2023 / Accepted for publication 1 November 2023.