

ПЕНЗЕНСКИЙ ИНСТИТУТ УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ ВРАЧЕЙ – ФИЛИАЛ  
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ  
ДОПОЛНИТЕЛЬНОГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«РОССИЙСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ НЕПРЕРЫВНОГО  
ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

*На правах рукописи*

**Трушина Елена Юрьевна**

**КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ТИПОВ  
ВОСПАЛЕНИЯ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ В ОПТИМИЗАЦИИ ТЕРАПИИ  
У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ И ХРОНИЧЕСКОЙ  
ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ**

14.03.09 – Клиническая иммунология, аллергология

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук, доцент

Костина Елена Михайловна

Пенза - 2019

Автор исследования выражает особую благодарность и признательность:

Научному руководителю, д.м.н. Костиной Е.М. за совместную работу, за инициацию и творческую поддержку в клинических исследованиях по проблеме диагностики типов воспаления дыхательных путей при бронхиальной астме и хронической обструктивной болезни легких.

Благодарность:

Научным и клиническим сотрудникам ЦНИЛ ПИУВ - филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России за помощь в проведении совместных исследований: д.б.н. Барановой Н.И., к.б.н. Левашовой О.А., к.б.н. Ащиной Л.А.;

Главному врачу ГБУЗ «Клиническая больница №4» г. Пензы, Водопьянову А.А., заведующей отделения пульмонологии Назаровой Н.В., врачам пульмонологам Бушуевой Т.Г., Автамоновой Ю.Р., Пановой Е.Ю за помощь в подборе и обследовании пациентов, включенных в исследование.

Признательность сотруднику лаборатории медицинской информатики Коноваловой Ю.С. за помощь в статистической обработке результатов при подготовке диссертации.

Заведующему кафедрой аллергологии и иммунологии, профессору, д.м.н. Молотилу Б.А. за ценные замечания в ходе подготовки материалов диссертации.

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....	5
<b>ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....	16
1.1 Современные представления о бронхиальной астме и хронической обструктивной болезни легких .....	16
1.2 Типы воспаления дыхательных путей при бронхиальной астме .....	19
1.3 Воспаление дыхательных путей при хронической обструктивной болезни легких .....	22
1.4 Роль некоторых цитокинов в патогенезе бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких .....	24
1.5 Эозинофильный катионный протеин .....	28
1.6 Нейтрофильная эластаза.....	30
<b>ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</b> .....	33
2.1 Дизайн исследования .....	33
2.2 Клиническая характеристика обследованных групп больных.....	35
2.3 Методы исследования.....	41
2.3.1 Общее клиническое обследование .....	41
2.3.2 Аллерго-иммунологические методы исследования .....	43
2.3.3 Определение эозинофильного катионного протеина и нейтрофильной эластазы .....	44
2.4 Методы статистической обработки данных.....	44
<b>ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ</b> .....	46
3.1 Роль цитокинов в иммунопатогенезе различных форм бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких .....	46
3.1.1 Характеристика цитокинов у больных бронхиальной астмой .....	46
3.1.2 Характеристика цитокинов у больных хронической обструктивной болезнью легких .....	50
3.1.3 Сравнительная характеристика цитокинов у больных неаллергической бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких .....	52

3.2 Биомаркеры типов воспаления дыхательных путей у больных бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких.....	55
3.3 Модель эозинофильного и нейтрофильного типов воспаления дыхательных путей у больных бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких.....	62
3.4 Оптимизация базисной терапии у больных неаллергической бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких с учетом типов воспаления дыхательных путей.....	72
3.5 Алгоритм определения эндотипа неаллергической бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких и выбора базисной терапии.....	79
<b>ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....</b>	<b>82</b>
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....</b>	<b>92</b>
<b>ВЫВОДЫ.....</b>	<b>93</b>
<b>ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....</b>	<b>95</b>
<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....</b>	<b>96</b>
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>	<b>98</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ А.....</b>	<b>122</b>

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования

Бронхиальная астма и хроническая обструктивная болезнь легких являются наиболее распространенными хроническими заболеваниями дыхательной системы. Рост заболеваемости бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких ежегодно увеличивается [10, 154], также возрастает смертность от хронической обструктивной болезни легких. Эксперты прогнозируют, что хроническая обструктивная болезнь легких может занять одно из ведущих причин смертности и инвалидности к 2020 году [120]. Актуальность проблемы этих заболеваний обусловлена их социально-экономической составляющей, так как, являясь хроническими заболеваниями, данная патология значительно снижает качество жизни пациентов, приводит к потере трудоспособности и инвалидизации больных трудоспособного возраста.

В современном аспекте бронхиальная астма и хроническая обструктивная болезнь легких являются гетерогенными заболеваниями с развитием множества фенотипов и разным ответом на терапию [33, 44, 66, 119, 121, 147, 192]. Фенотипирование заболеваний основывается на выявлении доминирующего подтипа воспаления дыхательных путей и биологических маркерах.

Ярким представителем эозинофильного воспаления дыхательных путей является аллергическая бронхиальная астма. Остается дискуссионным вопросом, какое воспаление преобладает при неаллергической бронхиальной астме. Отличительной особенностью неаллергической бронхиальной астмы является персистенция воспаления дыхательных путей преимущественно неаллергического генеза и толерантность к лечению глюкокортикостероидами [31, 127, 195]. Авторы связывают такое течение с преобладанием нейтрофильного воспаления в респираторном тракте [124, 173].

При хронической обструктивной болезни легких характерно нейтрофильное воспаление дыхательных путей. Исследования показывают, что у некоторой части пациентов с хронической обструктивной болезнью легких в мокроте и крови преобладают эозинофилы [158]. По данным литературы описывается, что у 34%

больных хронической обструктивной болезнью легких преобладает эозинофильный тип воспаления респираторного тракта [155]. Отмечено, что больные хронической обструктивной болезнью легких с эозинофильным фенотипом хорошо отвечают на терапию ингаляционными глюкокортикостероидами [78, 96, 131, 144, 169, 178], что приводит к снижению уровня эозинофилов в мокроте, улучшает течение заболевания и качество жизни пациентов [86, 92, 164, 168, 184]. Однако существует риск развития нежелательных явлений при лечении кортикостероидами, в первую очередь пневмоний [102] и других осложнений [108, 163, 172, 188]. Поэтому назначение ингаляционных глюкокортикостероидов при хронической обструктивной болезни легких должно быть обосновано.

Дискутируется вопрос о выделении критериев и маркеров для определения типов воспаления дыхательных путей. По данным литературы повышенное количество эозинофилов в крови является признаком эозинофильного типа воспаления дыхательных путей [158]. Однако в реальной клинической практике наблюдаются колебания уровня эозинофилов у одного и того же пациента в различные периоды времени, часто отмечается несовпадение количества эозинофилов в крови и мокроте, поэтому предлагаем изучить и включить дополнительные маркеры в оценку типа воспаления.

Таким образом, изучение типов воспаления дыхательных путей, их маркеров и выделение критериев эозинофильного и нейтрофильного воспаления является актуальной задачей современной респираторной медицины. Более четкий диагноз типов воспаления дыхательных путей у больных неаллергической астмой и хронической обструктивной болезнью легких позволит дифференцированно подойти к диагностике и терапии данной патологии.

### **Степень разработанности темы исследования**

Выделяют различные фенотипы бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких [10, 34, 118, 120]. По мнению ученых, в основе фенотипирования заболеваний лежит воспаление респираторного тракта, которое определяет клиническое течение заболеваний и ответ на проводимую терапию

[155, 192]. Г.Б. Федосеев с соавторами указывал, что течение астмы зависит от типа воспаления дыхательных путей [54]. Ученые высказывали свое мнение о необходимости дифференцированного подхода к терапии больных бронхиальной астмой на основании типа воспаления респираторного тракта. Авторы выделяли в отдельный фенотип инфекционно-зависимую астму, в патогенезе которой лежит неэозинофильный тип воспаления [52, 53]. В.И. Пыцкий разделял бронхиальную астму на клиничко-патогенетические формы, указывая, что в основе лежит различный патогенетический механизм (атопический и неатопический), что проявляется разным ответом на терапию [42]. Существенный вклад в изучение фенотипов астмы внесла S.E. Wenzel [191, 193, 194]. Автор предлагала выделять фенотипы с учетом тяжести заболевания, частоты обострений, наличия персистирующей бронхообструкции, возраста начала заболевания, ответа на терапию, определяемых триггеров [196].

Исследование цитокинового профиля у больных аллергической бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких проводилось многими учеными [19, 29, 41, 67, 79]. Показано, что цитокины играют роль в патогенезе аллергической астмы и хронической обструктивной болезни легких. Наименее изучена роль цитокинов в патогенезе у больных неаллергической астмой. Не проводилась сравнительная оценка значимости цитокинов при неаллергической астме и хронической обструктивной болезни легких.

Изучению роли эозинофильного катионного протеина при аллергической бронхиальной астме посвящено много работ [156, 170], при неаллергической астме и хронической обструктивной болезни легких исследования малочисленны [74, 85, 99]. К сожалению, отечественных работ по изучению эозинофильного катионного протеина практически нет. Не проводилась сравнительная оценка значимости данного маркера при разных формах бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких, и разных типах воспаления дыхательных путей.

По мнению авторов, нейтрофильная эластаза играет значительную роль в нейтрофильном воспалении дыхательных путей при бронхиальной астме [16, 54].

По данным литературы, тяжелое течение астмы ассоциируется с активностью нейтрофильной эластазы в дыхательных путях [160]. Описано, что нейтрофильная эластаза способствует развитию фиброзных изменений в бронхолегочной системе, что не исключает ее роли в патогенезе хронической обструктивной болезни легких [125]. Однако, не проводилась сравнительная оценка нейтрофильной эластазы у больных с данной патологией.

На современном этапе недостаточно изучен иммунопатогенез неаллергической бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких, продолжается дискуссия о критериях воспаления дыхательных путей. Выделение специфических маркеров воспаления, уточнение его типа позволит оптимизировать базисную терапию с учетом иммунологических параметров.

### **Цель исследования**

Усовершенствование диагностики типов воспаления дыхательных путей на основании комплексной оценки иммунологических маркеров для оптимизации базисной терапии у больных неаллергической бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких.

### **Задачи исследования:**

1. Оценить значимость спонтанной и индуцированной продукции цитокинов IL-4, IL-10, IL-6, IL-8 в патогенезе различных форм бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких.
2. Определить диагностическое значение эозинофильного катионного протеина и нейтрофильной эластазы в качестве маркеров различных типов воспаления дыхательных путей у больных бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких.
3. Выделить критерии эозинофильного и нейтрофильного типов воспаления респираторного тракта с учетом изученных маркеров.
4. Разработать алгоритм диагностики типов воспаления дыхательных путей у больных бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких.
5. Определить эндотипы неаллергической бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких с учетом типов воспаления

дыхательных путей и провести корреляционный анализ с показателями изученных цитокинов.

6. Оптимизировать базисную терапию у больных неаллергической бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких на основании разработанного алгоритма диагностики типов воспаления дыхательных путей.

### **Научная новизна**

Впервые разработана модель диагностики типов воспаления дыхательных путей при бронхиальной астме и хронической обструктивной болезни легких на основе многофакторного анализа наиболее значимых маркеров (Патент на изобретение № 2678577 от 30.01.2019).

Выделены два эндотипа неаллергической бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких с учетом типов воспаления дыхательных путей. Впервые предложенный алгоритм диагностики типов воспаления дыхательных путей у больных неаллергической бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких позволяет оптимизировать терапию при данной патологии.

На основании разработанной модели впервые предложена программа для ЭВМ с целью дифференцированного подхода к определению типа воспаления дыхательных путей у больных бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких.

Изучена роль и проведен сравнительный анализ спонтанной и индуцированной продукции цитокинов (IL-4, IL-10, IL-6, IL-8) при неаллергической бронхиальной астме и хронической обструктивной болезни легких. Доказано, что эозинофильный катионный протеин и нейтрофильная эластаза играют значимую роль в формировании типов воспаления дыхательных путей у больных бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких.

Определены основные дифференциально-диагностические критерии типов воспаления дыхательных путей. Критериями эозинофильного воспаления

дыхательных путей являются количество эозинофилов в индуцированной мокроте и эозинофильный катионный протеин в крови, критериями нейтрофильного воспаления дыхательных путей – абсолютное значение нейтрофилов и нейтрофильной эластазы в крови.

Впервые обоснована и оптимизирована базисная терапия больных неаллергической бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких с учетом типов воспаления дыхательных путей.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Результаты настоящего исследования вносят существенный вклад в улучшение диагностики типов воспаления дыхательных путей. Научно обосновано и подтверждено два возможных типа воспаления – эозинофильный и нейтрофильный у больных неаллергической бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких. В результате проведенной работы предложены дополнительные маркеры изученных типов воспаления дыхательных путей для совершенствования диагностики и повышения эффективности терапии у больных неаллергической бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких.

Предложен алгоритм диагностики типов воспаления дыхательных путей у больных неаллергической бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких, который позволяет повысить эффективность современной противовоспалительной и бронхолитической терапии у пациентов с данной патологией.

Впервые разработана программа для определения типа воспаления дыхательных путей у больных бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких (Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2018612296 от 14.02.2018).

### **Методология и методы исследования**

Методология исследования основана на изучении, анализе и обобщении данных имеющейся литературы по бронхиальной астме и хронической обструктивной болезни легких, воспалению респираторного тракта при изучаемой

патологии и спланирована в соответствии со структурой диссертационного исследования и поставленными задачами.

Предметом исследования являются бронхиальная астма и хроническая обструктивная болезнь легких. Основным объектом исследования являлись больные с диагнозами бронхиальная астма и хроническая обструктивная болезнь легких. Результаты анализировались при помощи статистических методов.

Для достижения цели, поставленной в работе, обследованы 146 больных с бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких в возрасте от 40 до 65 лет и 17 здоровых лиц.

Диагнозы «бронхиальная астма» и «хроническая обструктивная болезнь легких» были верифицированы на основании следующих международных рекомендательных документов: Глобальная Стратегия лечения и профилактики бронхиальной астмы (GINA, 2014) и Глобальная Стратегия лечения и профилактики хронической обструктивной болезни легких (GOLD, 2014).

Был применен клинико-диагностический комплекс исследований: клинический осмотр пациентов, изучение анамнеза, проведение спирометрии, общеклиническое исследование крови и мокроты, аллергологическое и иммунологическое исследование крови.

#### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Для аллергической бронхиальной астмы, в основе которой лежит эозинофильный тип воспаления дыхательных путей, характерно повышение индуцированной продукции ИЛ-4, спонтанной и индуцированной продукции ИЛ-10. При неаллергической бронхиальной астме и хронической обструктивной болезни легких, патологиях с преимущественно нейтрофильным типом воспаления, выявлены повышенные значения спонтанной и индуцированной продукции ИЛ-6 и ИЛ-8, при этом достоверно преобладала спонтанная и индуцированная продукция ИЛ-6 при неаллергической бронхиальной астме и индуцированная продукция ИЛ-8 при хронической обструктивной болезни легких.

2. Определены маркеры типов воспаления дыхательных путей при бронхиальной астме и хронической обструктивной болезни легких.

Эозинофильный тип воспаления дыхательных путей характеризуется повышенным количеством эозинофилов в индуцированной мокроте и высоким уровнем эозинофильного катионного протеина в крови, нейтрофильный тип воспаления – повышенным абсолютным значением нейтрофилов и повышенным уровнем нейтрофильной эластазы в крови. Разработана модель диагностики типов воспаления дыхательных путей у больных бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких с учетом выделенных маркеров.

3. Выявлена гетерогенность неаллергической бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких с учетом алерго-иммунологических параметров и диагностированных типов воспаления дыхательных путей. Выделены два эндотипа по типу воспаления: эозинофильный и нейтрофильный. При эндотипе неаллергической бронхиальной астмы с эозинофильным типом воспаления оптимально назначение ингаляционных глюкокортикостероидов в виде монотерапии или в сочетании с бронхолитиками, при эндотипе неаллергической бронхиальной астмы с нейтрофильным типом воспаления – комбинированной терапии ингаляционными глюкокортикостероидами в сочетании с бронхолитическими препаратами. При эндотипе хронической обструктивной болезни легких с эозинофильным типом воспаления обосновано назначение ингаляционных глюкокортикостероидов в дополнение к базисной терапии, при эндотипе хронической обструктивной болезни легких с нейтрофильным типом воспаления показана бронхолитическая терапия.

### **Степень достоверности и апробация результатов исследования**

О достоверности результатов работы свидетельствует достаточный объем исследований, использование современных, объективных, высокочувствительных и специфичных методов исследования, которые поддерживаются программным обеспечением, позволяющим проводить статистический анализ полученных данных. Использование указанных методов, а также корректной статистической обработки, позволило количественно и качественно определить маркеры и разработать диагностику типов воспаления дыхательных путей у больных бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких.

Диссертационная работа апробирована на заседании межкафедральной конференции ПИУВ - филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (протокол № 23А от 15 октября 2019 г.).

Материалы диссертационной работы были доложены на XXI научно-практической конференции, посвященной памяти академика Н.Н. Бурденко (Пенза, 2016); на XIX Межрегиональной научно-практической конференции «Актуальные вопросы диагностики лечения и реабилитации больных» (Пенза, 2017); на VI Межрегиональной научно-практической конференции «Сурская осень», приуроченной к 40-летию Клинической больницы №6 им. Г.А. Захарьина (Пенза, 2018); на XII Всемирном конгрессе по астме, ХОБЛ и иммунопатологии, I Международном конгрессе по молекулярной аллергологии, Всемирной школе по аллергии (WATS) (Москва, 2018); XX Международном конгрессе «Здоровье и образование в XXI веке», «Отечественная медицина как основа развития современного здравоохранения» (Москва, 2018); конкурсе на получение стипендии Президента Российской Федерации для молодых ученых и аспирантов, осуществляющих перспективные научные исследования и разработки по приоритетным направлениям модернизации российской экономики в 2019-2021 гг.

### **Соответствие диссертации паспорту специальности**

Научные положения и результаты диссертации соответствуют формуле и области исследований специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология. Диссертационная работа посвящена изучению иммунопатогенеза бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких, роли эозинофильного катионного протеина и нейтрофильной эластазы в формировании типов воспаления дыхательных путей при бронхиальной астме и хронической обструктивной болезни легких. Тема диссертационной работы является фрагментом межкафедральной комплексной темы: «Иммунокоррекция у больных с воспалительными заболеваниями дыхательных путей с учетом аллерго-иммунологических механизмов» (номер государственной регистрации АААА-А18-118053090066-3).

### **Личный вклад автора**

Автор принимала участие в выборе направления диссертационного исследования и выполнении всех его этапов, включая разработку дизайна исследования. Все пациенты осматривались лично автором, автором лично проводилась диагностика бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких, интерпретация результатов комплексного обследования. Анализ литературы, ведение индивидуальных регистрационных карт пациентов и их отбор, апробация результатов научных исследований, формирование электронных баз данных, статистическая обработка, подготовка основных публикаций по материалам исследования выполнены лично автором.

### **Публикации по теме диссертации**

По теме диссертации опубликовано 24 работы, из них 8 статей опубликованы в изданиях, включенных в перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий ВАК, из них 1 статья в журнале, включенном в базу данных Scopus, получен патент на изобретение, разработана программа для ЭВМ.

### **Внедрение результатов исследования в практику**

Предложенный алгоритм диагностики типов воспаления дыхательных путей у больных бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких внедрен в работу отделения аллергологии и отделения пульмонологии Государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Клиническая больница №4» и в работу врача аллерголога-иммунолога консультативно-диагностической поликлиники «Медицина для Вас» в г. Пензе. Основные результаты, положения и выводы диссертации, включая алгоритм диагностики типов воспаления дыхательных путей у больных бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких, включены в учебный процесс кафедры аллергологии и иммунологии ПИУВ - филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России. Подготовлены методические рекомендации для врачей.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, главы собственных исследований, главы

обсуждения результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка используемой литературы. Диссертация изложена на 128 страницах, содержит 19 таблиц, 22 рисунка. В библиографическом указателе приведены 200 источников, в том числе 64 работы отечественных авторов и 136 зарубежных источников.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Современные представления о бронхиальной астме и хронической обструктивной болезни легких

Хронические обструктивные заболевания легких, такие как бронхиальная астма (БА) и хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ), являются ведущими заболеваниями респираторной медицины. Количество больных, страдающих БА, оценивается, как 300 миллионов человек, а ее распространенность среди взрослого населения составляет от 1 до 18 % в различных регионах [154]. К 2025 году прогнозируют развитие БА дополнительно у 100-150 миллионов человек [142]. Распространенность заболевания и ущерб от ХОБЛ увеличивается, что может быть объяснено неблагоприятной экологической ситуацией, продолжающимся действием факторов риска. ХОБЛ, как причина смертности занимает 4-е место в мире в возрастной группе старше 45 лет и является болезнью, при которой смертность продолжает увеличиваться [120]. Эксперты прогнозируют, что ХОБЛ войдет в число лидирующих причин смертельных исходов [121].

В последние годы БА и ХОБЛ рассматриваются, как гетерогенные заболевания. Гетерогенность данных заболеваний проявляется в неоднородности клинических симптомов и разным ответом на базисную терапию. В основе этих проявлений лежат патогенетические механизмы, обусловленные разными типами воспаления дыхательных путей, [10, 52, 53, 54, 68, 83, 91, 119, 121, 159, 182, 191, 193, 195, 196].

БА является хроническим заболеванием, характеризующееся иммунным воспалением бронхов с развитием гиперреактивности и возникновением вследствие этого симптомов бронхообструкции.

За последние десятилетия подход к классификации БА претерпевал изменения. В Международном согласительном документе «Глобальная Стратегия лечения и профилактики бронхиальной астмы» (GINA), ранее заболевание классифицировалось по степени тяжести течения. Существовали

долгое время только экзогенная и эндогенная формы БА, в основе обоих вариантах течения преобладало эозинофильное воспаление в дыхательных путях. В 2014 году в GINA, впервые официально опубликованы фенотипы БА. Были выделены следующие фенотипы астмы: аллергическая, неаллергическая, БА с поздним дебютом, БА с фиксированной обструкцией дыхательных путей, БА у больных с ожирением [29, 118].

Гетерогенность БА проявляется в дебюте, этиологии заболевания, вариативности клинического течения, ответе на противовоспалительную терапию [33, 36, 44, 51]. Гетерогенность отражается в фенотипе заболевания. Фенотип - это совокупность всех свойств и признаков особи, сформировавшихся в результате взаимодействия генотипа с окружающей средой. Изучение фенотипов заболевания способствует индивидуальному подходу к ведению пациентов и назначению своевременной адекватной противовоспалительной терапии в зависимости от клинического течения заболеваний [34, 65, 87, 98]. Клинические фенотипы астмы формируются на основании эндотипа и факторов внешней среды. Выделяют два эндотипа: Th2-эндотип и не-Th2-эндотип [20]. Один эндотип может формировать несколько фенотипов. К Th2-эндотипу относят аллергическую БА, аспириновую БА, БА физического усилия, позднюю эозинофильную БА. БА с ожирением, БА курильщика, малогранулоцитарная БА, в формировании которой участвуют гладкомышечные клетки и БА с очень поздним дебютом в патогенезе этих фенотипов астмы лежит не-Th2-эндотип [35, 148, 192].

На современном этапе выделяют воспалительные биофенотипы БА, которые отражают преимущественный тип клеток, вовлеченный в воспаление дыхательных путей. К биофенотипам относят: эозинофильную БА, характеризуется наличием эозинофилов  $\geq 3\%$  в индуцированной мокроте, нейтрофильную БА, когда нейтрофилы составляют  $\geq 61\%$  в индуцированной мокроте, смешанную гранулоцитарную БА, малогранулоцитарную БА, когда количество эозинофилов и нейтрофилов в норме в индуцированной мокроте [177, 179]. Распространенность фенотипов воспаления БА по данным

цитологического исследования мокроты вариабельна. В обзоре Г.Б. Федосеева с соавторами приводятся данные о распространённости типов воспаления респираторного тракта при БА: эозинофильное воспаление наблюдалось у 63,8%, нейтрофильное - у 10%, смешанное гранулоцитарное – у 10% и малогранулоцитарное – у 26,2% [55].

ХОБЛ является хроническим обструктивным заболеванием бронхолегочного аппарата, в основе патогенеза которого лежит воспаление дыхательных путей. Патофункциональные и клинические проявления ХОБЛ характеризуются частично обратимым, а в дальнейшем необратимым нарушением бронхиальной проходимости и формированием эмфиземы [62]. Данная патология имеет прогрессирующее течение с выраженными системными эффектами, которые приводят к тяжелому течению заболевания [39].

Больные ХОБЛ также являются разнородными по клиническому течению заболевания, по ответу на терапию, это способствовало выделению фенотипов данной патологии [38, 67]. Патогенез ХОБЛ обусловлен нарушением мукоцилиарной функции, ремоделированием воздухоносных путей, гиперинфляцией, системной воспалительной реакцией, коморбидной патологией. Преобладание каждого компонента может соответствовать различным фенотипам ХОБЛ. Фенотип ХОБЛ - это клинические проявления болезни, характеризующиеся различиями между больными ХОБЛ, которые проявляются различными клиническими симптомами, обострениями, ответом на терапию, скоростью прогрессирования заболевания [129]. Выделение фенотипа ХОБЛ важно для прогноза течения заболевания и ответа на терапию. В зависимости от индивидуальных особенностей больных уже давно выделяют две основные клинические формы заболевания - эмфизематозную и бронхитическую, имеющие четкие разграничительные признаки, определяемые, как фенотипы [60]. Эмфизематозный тип («розовые пыхтельщики») характеризуется одышкой, отсутствием цианоза, сниженной массой тела, а бронхитический тип («синие отечники») - хроническим бронхитом, цианозом, отеками нижних конечностей и другими признаками правожелудочковой сердечной недостаточности. На

протяжении многих лет, эти два фенотипа ХОБЛ не потеряли актуальность и в настоящее время.

Авторы разных стран предлагают фенотипировать ХОБЛ на основании осложнений заболевания [140], наличия бронхиальной гиперреактивности [49], иммунного статуса [37], а также выделяют ХОБЛ с частыми обострениями [7, 66].

Таким образом, БА и ХОБЛ имеют множество фенотипов, формирующиеся на основании различных типов воспаления дыхательных путей, клинических проявлений. Изучение фенотипов заболевания позволит дифференцированно подходить к выбору терапии.

## **1.2 Типы воспаления дыхательных путей при бронхиальной астме**

Воспаление дыхательных путей является основным патогенетическим звеном БА. Оно может отличаться клеточным составом, который будет обуславливать тип воспаления респираторного тракта.

Воспаление дыхательных путей при БА может происходить по Th2-типу и не-Th2-типу иммунно-опосредованному ответу [135]. Тип иммунного ответа зависит от набора цитокинов [30]. В зависимости от типа воспаления дыхательных путей формируется течение заболевания. Активация Т-лимфоцитов по тому или иному пути зависит от вида аллергического агента, характера и длительности триггерных факторов и от коморбитного фона [21]. Соответственно дальнейшее лечение будет зависеть от характера воспаления респираторного тракта.

Воспаление при БА может приводить к ремоделированию бронхиального дерева за счет патоморфологических процессов в эпителии стенки бронхов [32, 128, 185].

Классическим примером эозинофильного фенотипа является аллергическая БА. Больных с аллергической БА, сопровождает аллергологический анамнез с детства, у них часто повышен уровень иммуноглобулин Е (IgE), выражена гиперреактивность бронхов [9]. Пациенты с преобладанием эозинофильного воспаления хорошо отвечают на терапию глюкокортикостероидами (ГКС) [84, 101, 194].

Воспаление бронхиального дерева при аллергической БА связано с Т-хелперами 2-го типа клеток - зависимого синтеза IgE и продукции эозинофилов, тучных клеток и базофилов [35, 134]. Эпителиальный пласт респираторного тракта инфильтрирован: Т-лимфоцитами, эозинофилами, макрофагами, моноцитами и тучными клетками. Активация Th2 - клеток, способствует синтезу IgE, активации IL-4, IL-5, IL-13, притоку эозинофилов в дыхательные пути, тем самым вызывая патофизиологические изменения в просвете бронхов [29, 82]. В исследованиях описывается выявленная корреляция между содержанием эозинофилов в мокроте и количеством эозинофилов в крови у больных БА, это авторы объясняют системным регулирующим влиянием [55]. Повышенное количество эозинофилов в мокроте может обуславливаться тяжестью течения заболевания. Значимая роль эозинофильных гранулоцитов в патогенезе тяжелой астмы связана с цитотоксическим действием протеинов, продуцируемые эозинофилами [138, 139]. Этот эффект проявляется повышенной десквамацией эпителиоцитов. Эозинофилия в мокроте может способствовать суточной лабильности бронхов, тем самым утяжеляя течение астмы [14].

Воспаление дыхательных путей у больных БА может активироваться не только Th2 иммунному ответу, но и по не-Th2. Обнаружено, что при позднем дебюте БА происходит уменьшение или исчезновение признаков атопии и присоединение симптомов бактериальной инфекции [28]. По данным литературы, БА в основе, патогенеза которой, лежит инфекционное воспаление развивается, как правило, на фоне хронических бронхитов, воспалении придаточных пазух носа, пневмоний [26, 56]. Авторы описывают, что часть больных БА, имеют толерантность к терапии ингаляционным глюкокортикостероидами (ИГКС) [100, 110, 127]. Во многих работах отмечено, что снижение эффективности ИГКС, особенно при тяжелом неконтролируемом течении БА, связано непосредственно с типом воспаления дыхательных путей, которое в первую очередь обусловлен нейтрофилами [113, 124, 137, 161, 173].

Российские ученые подтверждают, что течение БА зависит от типа воспаления дыхательных путей [6, 42, 53]. Авторы высказывали свое мнение о

необходимости дифференцированного подхода к терапии больных БА на основании типа воспаления респираторного тракта. Ученые выделяли в отдельный фенотип инфекционнозависимую астму, в патогенезе которой лежит незозинофильный тип воспаления. В последующем представления о данном фенотипе БА претерпели изменения и в настоящее время его относят в большей степени к неаллергическому или фенотипу астмы с нейтрофильным типом воспаления дыхательных путей [106].

По данным литературы нейтрофильный фенотип астмы характеризуется высоким содержанием нейтрофилов в мокроте (>65%) или нейтрофильной инфильтрацией в биоптатах бронхов [162, 173]. P. Nair с соавторами предложили, чтобы термин «нейтрофильная астма» был ограничен теми пациентами, у которых последовательно (по крайней мере в двух случаях) обнаруживается количество нейтрофилов мокроты  $\geq 65\%$  или  $\geq 500 \times 10^4/\text{мл}$  [162].

Описывается, что нейтрофильный тип воспаления дыхательных путей встречается у 20% больных БА [179]. Для нейтрофильного фенотипа БА характерны неконтролируемое тяжелое течение, частые обострения заболевания, связанные с вирусной и бактериальной инфекциями, низкие спирометрические показатели и большая потребностью в ИГКС [16, 31, 50, 70, 176]. В свою очередь, нейтрофилы способны к синтезу белков и цитокинов, участвующих в иммунологических реакциях, таких как нейтрофильная эластаза, IL-6, IL-8, IL-17 и другие, активация которых способствует поддержанию нейтрофильного воспаления в дыхательных путях [58, 146]. По данным литературы, нейтрофильное воспаление дыхательных путей способствует развитию эмфиземы легких [143].

Таким образом, воспаление дыхательных путей при БА может быть разным и зависит от вида клеточного состава респираторного тракта. Тип воспаления дыхательных путей при астме обуславливает дальнейшее течение заболевания и ответ на терапию. Дальнейшее изучение и определение типов воспаления при БА является актуальной современной проблемой, что позволит улучшить терапию больным.

### 1.3 Воспаление дыхательных путей при хронической обструктивной болезни легких

Воспаление дыхательных путей при ХОБЛ имеет неоднородный характер (рисунок 1) [155].

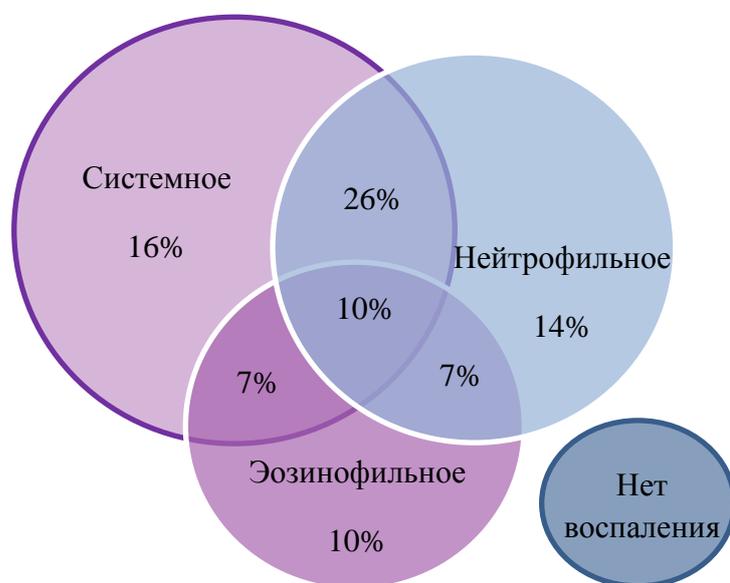


Рисунок 1 - Распространённость типов воспаления у больных хронической обструктивной болезнью легких

Характер воспаления респираторного тракта при ХОБЛ зависит от клеточного профиля дыхательных путей, которые обуславливают тип воспаления. В процесс воспаления при ХОБЛ вовлечены мелкие и крупные бронхи, альвеолы с формированием эмфиземы и пневмофиброза [152]. Воспалительные процессы бронхолегочного аппарата приводят к перибронхиальному фиброзу терминальных отделов бронхиального дерева, разрушению альвеол, тем самым вызывая бронхообструкцию и развитие эмфиземы легких [151]. При ХОБЛ основными клетками, участвующими в воспалении дыхательных путей, являются нейтрофилы, макрофаги и CD8+лимфоциты. Патогенез ХОБЛ характеризуется прогрессирующей обструкцией и ремоделированием дыхательных путей.

В работах описывается, что некоторые больные ХОБЛ имеют эозинофильное воспаление дыхательных путей [107, 144, 187]. По данным

литературы эозинофильный фенотип ХОБЛ встречается у 34% больных ХОБЛ в периоды стабильного течения заболевания [155].

Выделение эозинофильного фенотипа заболевания необходимо для решения вопроса о целесообразности назначения ИГКС больным ХОБЛ. Регулярная терапия ИГКС связана с повышенным риском возникновения нежелательных явлений, таких как, пневмония [98], гематомы, кандидоз полости рта, осиплость голоса [102, 163, 172, 188, 197]. Учитывая повышенный риск развития потенциально серьезных побочных эффектов и осложнений при терапии ГКС, назначение данной группы препаратов должно быть обосновано, ограничено для пациентов, у которых эффект лечения перевешивает риск [158].

Авторы отмечают, что ИГКС будут оказывать положительное противовоспалительное действие у больных ХОБЛ с эозинофильным типом воспаления дыхательных путей [78, 88, 96, 131, 169, 178] и с неинфекционным обострением заболевания.

М. Vafadhel с соавторами в своих работах наблюдали положительный ответ на терапию системными ГКС у больных ХОБЛ с повышенным количеством эозинофилов в крови [72, 73]. Исследования показывают, что терапия ИГКС приводит: к снижению частоты обострения заболевания [168], снижению уровня эозинофилов в мокроте [86], улучшению клинико-функциональных показателей [89] и качества жизни больных [92, 164, 184].

По данным литературы маркером эозинофильного фенотипа ХОБЛ является количество эозинофилов в крови [150, 158]. Однако, не существует единого мнения, при каком количестве эозинофилов в крови необходимо назначать ИГКС, данные варьируют от 2% до 5% [180].

Таким образом, изучение типа воспаления дыхательных путей при ХОБЛ имеет важное значение для выбора терапии. На современном этапе остается дискуссионный вопрос о выделении критериев эозинофильного типа воспаления респираторного тракта у больных ХОБЛ. Точность диагностики типа воспаления при ХОБЛ позволит подойти к обоснованному назначению ИГКС у больных с данной патологией.

#### **1.4 Роль некоторых цитокинов в патогенезе бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких**

Клетки воспаления и структурные клетки респираторной системы способны синтезировать различные цитокины [116]. Цитокины являются белковыми медиаторами, играющие ключевую роль в развитии и поддержании хронического воспалительного процесса респираторного тракта при БА и ХОБЛ, и отвечающие за характер течения воспалительной реакции. Цитокины осуществляют межклеточные связи, имея свой генетический маркер [153]. Цитокины взаимодействуют с клетками через рецепторы, которые локализуются на мембранах иммунокомпетентных клеток, эпителиальных, эндотелиальных и гладкомышечных, способствуют выбросу медиаторов воспаления и тем самым вызывают различные патофизиологические проявления [79]. От продукции определенных цитокинов зависит иммунопатогенез воспаления дыхательных путей при БА и ХОБЛ.

IL-4 является одним из медиаторов аллергической реакции, Th2 типа иммунного ответа [11]. IL-4 активирует молекулы клеточной адгезии в эндотелии сосудов, что приводит к миграции T-лимфоцитов, моноцитов, базофилов и эозинофилов в очаг воспаления, а также способствует дифференцировке Th2-лимфоцитов [183]. Кроме того, IL-4 способствует активации синтеза факторов роста, которые приводят к формированию ремоделирования дыхательных путей [23].

IL-6 - это цитокин к продуцируемый макрофагами, лимфоцитами, фибробластами, эпителиальными и другие клетками. Роль IL-6 при аллергическом воспалении неоднозначна, с одной стороны он снижает количество эозинофилов и уровень IL-4, IL-5 в респираторном тракте, с другой стороны принимает участие в развитие пневмофиброза [190]. Авторы не исключают роль IL-6 в повреждении бронхолегочной ткани, что в последствие может привести к ремоделированию бронхов и потере эластичности эпителиальной ткани [105, 190].

Не менее значимым участником воспалительного процесса дыхательных путей является IL-8, являющийся провоспалительным хемокином. IL-8 синтезируется макрофагами, эпителиальными и эндотелиальными клетками [22]. IL-8 выступает на защиту организма от различных патогенных факторов, в первую очередь инфекционного генеза, привлекая в очаг воспаления нейтрофилы [79, 97].

IL-10 представляет собой регулятор иммунного ответа. Он может оказывать противовоспалительное действие за счет подавления синтеза многих белков воспаления, провоспалительных цитокинов [22].

Изучению цитокинов при аллергической астме посвящено множество работ, менее изучен этот вопрос при неаллергической БА [19, 43, 45].

В работе Л.Н. Сорокиной с соавторами выявлены высокие концентрации IL-4 и IL-6 в сыворотке крови у больных неаллергической бронхиальной астмы, в тоже время, наличие сопутствующей патологии - сахарного диабета приводило к снижению уровня IL-4 [47].

В обзоре О.М. Курбачевой описывается, что эозинофильный тип воспаления характерен не только для ранней аллергической БА, но и для неаллергической БА с поздним началом [29]. Индукция эозинофилов может быть стимулирована инфекционным фактором, в частности суперантигенами золотистого стафилококка. При этом тоже отмечается повышение IL-4 и реализуется Th2 тип иммунного ответа [71]. Помимо этого, эозинофильный тип воспаления может реализовываться не только по Th2 типу иммунного ответа. Вместе с аллергенами, липополисахариды клеточных стенок бактерий через активацию толл-подобных рецепторов могут стимулировать выработку тимусного стромального лимфопоэтина, IL-25, IL-33 и как следствие синтез IL-4, IL-5, IL-13. Тяжелое течение астмы чаще проявляется нейтрофильным эндотипом воспаления дыхательных путей, в формировании которого могут принимать участие IL-6, IL-8, IL-17, IL-1 $\beta$ , фактор некроза опухолей  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) [13]. У больных БА, ассоциированной вирусной инфекцией, по данным литературы описывается высокий уровень IL-8 в сыворотке крови [27].

Таким образом, изучение иммунопатогенеза при астме, позволит дифференцированно подойти к терапии больных БА с позиций индивидуального подхода, прогнозировать тяжесть течения и разработать профилактические мероприятия.

Ключевыми цитокинами в развитии и поддержании хронического воспаления дыхательных путей при ХОБЛ являются IL-8, TNF- $\alpha$  и IL-6. Также в литературе отмечено, что формирование CD4<sup>+</sup> типа иммунного ответа имеет важное значение в развитии эозинофильного типа воспаления в ткани респираторного тракта, формируя эозинофильный фенотип ХОБЛ [107].

В работе И.С. Абдурахмановой с соавторами было выявлено повышение уровня цитокинов IL-6, IL-8 и снижение концентрации IL-4, как спонтанной, так и индуцированной продукции ( $p < 0,05$ ) в сыворотке крови больных с тяжелым течением ХОБЛ. По мнению авторов, выявленный дисбаланс провоспалительных и противовоспалительных цитокинов является отрицательным прогностическим фактором, свидетельствующим о нарушении регуляторной функции цитокинов, что способствует поддержанию воспалительного процесса в дыхательных путях у больных ХОБЛ [1].

В другом исследовании, показано, что значения IL-8 и других цитокинов (TNF- $\alpha$ , гамма-интерферона) в мокроте, смывов из бронхов, жидкости бронхоальвеолярного лаважа (ЖБАЛ) и сыворотке крови у больных ХОБЛ сохраняются высокими на разных стадиях заболевания. Наибольший уровень IL-8 в сыворотке крови был отмечен в третью стадию заболевания и составил  $28,69 \pm 2,92$  пг/мл ( $p < 0,005$ ), однако, авторами отмечено снижение значений изучаемого цитокина в сыворотке крови к четвертой стадии болезни -  $16,2 \pm 1,04$  пг/мл ( $p < 0,005$ ). Возможно, это связано с применением системных и топических стероидов у больных, в том числе для купирования обострения [17].

По данным литературы, при изучении IL-1 $\beta$ , IL-6 и TNF- $\alpha$  в сыворотке крови у больных ХОБЛ с нормальным и повышенным систолическим давлением в легочной артерии, установлена взаимосвязь высокого уровня IL-6, TNF- $\alpha$  и повышенного давления в легочной артерии, что свидетельствовало о

более тяжелом течении заболевания [41]. Данный факт корреляции высоких значений IL-6 и IL-8 в сыворотке крови больных и тяжестью течения ХОБЛ подтвердили в своих работах и другие исследователи [67], с этим же связывают и увеличение риска смертности [94].

Кроме того, выявлено наличие обратной корреляции между содержанием цитокинов IL-8 ( $r = -0,64$ ) и IL-1 $\beta$  ( $r = -0,53$ ) в ЖБАЛ и значением объема форсированного выдоха за 1 секунду (ОФВ<sub>1</sub>) у больных среднетяжелого и тяжелого течения ХОБЛ вне обострения. По мнению авторов, нарушение соотношения провоспалительных (IL-8, IL-1 $\beta$ ) и противовоспалительных цитокинов (IL-10, TNF- $\alpha$ ) способствует прогрессированию хронического воспалительного процесса при ХОБЛ даже в период ремиссии [48].

При изучении ХОБЛ профессионального генеза различной степени тяжести, так же отмечались повышенные значения IL-6 и IL-8 в сыворотке крови больных относительно здоровых лиц ( $p < 0,05$ ). Вместе с тем достоверных данных по уровням IL-1 $\beta$ , IL-4 и TNF- $\alpha$  ( $p < 0,05$ ) в исследовании получено не было. В связи с этим, авторы сделали вывод, что респираторное воспаление в периоде стабильной фазы болезни выражено слабо и мало зависит от степени обструктивных нарушений [12].

Встречаются и другие работы, в которых выявлено повышение уровня IL-4. В сыворотке крови уровень IL-4 составил  $403 \pm 11$  пг/мл у больных ХОБЛ в период обострения ( $p < 0,05$ ) в сравнении со значениями ( $200 \pm 25$  пг/мл), полученными у пациентов в период ремиссии [64]. При сравнительном анализе содержания цитокинов в крови в зависимости от стадии ХОБЛ было обнаружено повышение уровня IL-4 [18]. В данном аспекте остается много дискуссионных вопросов о роли и значимости IL-4, IL-10 при воспалении у больных ХОБЛ.

Исходя из выше сказанного, изучение роли цитокинов в патогенезе ХОБЛ является актуальной современной проблемой. Большая часть исследовательских работ проводилась по изучению уровня цитокинов в

сыворотке крови. Изучение медиаторов в ЖБАЛ в реальной клинической практики затруднено и трудоемко.

Современный научный интерес представляет изучение индуцированной продукции цитокинов, как резервной возможности иммунокомпетентных клеток. Кроме того, индуцированная продукция изучаемых медиаторов может более точно отражать характер и интенсивность воспаления у больных БА и ХОБЛ.

### **1.5 Эозинофильный катионный протеин**

Эозинофилы содержат множество пресинтезированных ферментов и катионных белков с высокой биологической активностью, хранящихся в цитоплазматических гранулах. Гранулярные белки эозинофилов высвобождаются в ответ на различные стимулы и мигрируют из кровяного русла непосредственно в очаг воспаления. Активированные белки эозинофилов принимают активное участие в реализации воспалительных реакций, стимулируют выделение гистамина из тучных клеток и базофилов, вызывают деструкцию и фрагментацию патогенов различной природы, ингибируют пролиферацию Т-лимфоцитов, обеспечивая регуляцию клеточно-опосредованных иммунологических реакций [24, 133, 174].

В обзоре Ю.В. Колобовниковой с соавторами описывается, что эозинофилы способны к синтезу белков: основного белка (MBP, major basic protein), эозинофильного катионного протеина (ECP, eosinophilic cationic protein), эозинофильной пероксидазы (EPO eosinophil peroxidase) и эозинофильного нейротоксина (EDN eosinophilic neurotoxin) [24], которые обладают провоспалительной и цитотоксической активностью, приводящей к ремоделированию дыхательных путей [114, 117, 136].

ECP - компонент эозинофильных гранул, высвобождаемый в ходе дегрануляции эозинофилов. ECP член подсемейства рибонуклеазы А, кодируемый несколькими генами, экспрессированными в эозинофилах (содержание ECP 15-25 пг на 1 клетку). ECP является катионным полипептидом (молекулярная масса 16-21,4 кД) [25, 133]. ECP обладает различной биологической активностью, включая

антибактериальную, противовирусную, противопаразитарную и нейротоксическую функции, и способствует регуляции активности фибробластов [104]. ECR является основным маркером аллергического воспаления респираторного тракта, отражает степень эозинофильной активации и способствует персистенции воспаления и обструкции дыхательных путей [80, 93, 126].

В исследованиях выявлена корреляция высокого уровня ECR с низкими значениями ОФВ<sub>1</sub> и хорошим ответом на терапию ГКС [156]. Также отмечается достоверная корреляция повышенного содержания эозинофилов в мокроте с ECR в крови ( $r=0,41$ ,  $p<0,001$ ). Причем пациенты с высоким содержанием эозинофилов в мокроте и повышенным уровнем ECR в крови имели более тяжелое течение заболевания, в то время как ОФВ<sub>1</sub> и пиковый экспираторный поток обратно коррелировали с количеством ECR в мокроте [99]. В другой работе подтверждена корреляция между высокими значениями ECR в сыворотке крови и абсолютным числом периферических эозинофилов ( $r=0,007$ ;  $p=0,881$ ) [170]. Авторы предполагают, что ECR можно использовать в качестве маркера для выявления больных с БА. В исследованиях обнаружено, что наиболее значимое повышение уровня экспрессии мРНК ECR сыворотки крови было у детей в период обострения БА в сравнении со здоровыми лицами [199].

Работы по изучению роли ECR при ХОБЛ малочисленны [74, 85, 123]. Авторы отмечают, что повышение содержания эозинофилов и активация ECR в сыворотке крови происходит во время обострения ХОБЛ [112, 115, 198]. В исследовании по изучению роли ECR при БА и ХОБЛ, не было выявлено корреляции с повышенным уровнем ECR и эозинофилов в мокроте у больных ХОБЛ ( $r=0,22$ ;  $p>0,05$ ), в отличие от больных БА ( $r=0,86$ ;  $p<0,05$ ), что говорит о значительной роли ECR в патогенезе БА, чем ХОБЛ [149]. По данным литературы, рассматривается участие эозинофилов и ECR в развитии хронического ремоделирования легочной ткани [90].

Таким образом, роль ECR неоднозначная в воспалении респираторного тракта при изучаемой патологии. На наш взгляд изучение роли ECR и

возможности применения его, как диагностического маркера эозинофильного воспаления дыхательных путей у больных БА и ХОБЛ имеет большое значение. В практической деятельности для определения типа воспаления исследуется количество эозинофилов в крови, но это не всегда бывает достаточно.

### **1.6 Нейтрофильная эластаза**

Нейтрофилы способны к синтезу нейтрофильной эластазы (НЭ). НЭ является протеолитическим ферментом, принадлежащая к химотрипсину подобная семейству сериновых протеаз [3]. В своем активном центре содержит аминокислоту серин, что дало название их семейству. НЭ содержится в азурофильных цитоплазматических гранулах полиморфноядерных лейкоцитов. Незначительные концентрации определяются в моноцитах, Т-лимфоцитах, наибольшее количество НЭ содержится в нейтрофилах, которым протеаза обязана своим названием.

В обзоре Л.А. Горячкиной и соавторов описывается, что НЭ усиливает секрецию муцина бокаловидными и подслизистыми железистыми клетками, тем самым вызывая гиперсекрецию слизи. Протеаза нейтрофила является важным медиатором активации эпителиальной клетки и способствуют усилению сосудистой проницаемости [16, 69]. Под влиянием цитокинов, липополисахаридов, фрагментов бактериальной стенки происходит выделение НЭ в экстрацеллюлярное пространство. Вследствие, протеолитических свойств, НЭ способна разрушать внеклеточный матрикс эластина, коллагена, протеогликана, а также деградировать другие матричные белки и гликопротеиды. НЭ может играть важную роль в ремоделировании ткани [141], вследствие разрушения механически важных структур, таких как коллаген и фибронектин, а также белков мембраны бактерий [77]. НЭ способна к расщеплению растворимых белков, таких как, иммуноглобулины, факторы коагуляции, компоненты комплемента,  $\alpha_1$ -антитрипсин (ААТ). Такой патологический эффект эластазы может приводить к прогрессированию пневмофиброза и эмфиземы.

По данным литературы, НЭ может проявлять, как провоспалительное, так и противовоспалительное действие. Эластаза способствуя продукции ИЛ-6 и ИЛ-8,

колониестимулирующего фактора, тем самым усиливает воспалительный процесс в тканях [81]. При взаимодействии НЭ с ААТ, происходит его фрагментация на хемоаттрактанты, что способствует увеличению притока нейтрофилов к месту реакции [75]. В свою очередь IL-6 способствует формированию фиброза в бронхолегочной системе [190].

Также НЭ обладает противовоспалительным эффектом, участвуя в защитных реакциях организма. НЭ обладает литическими свойствами в отношении цитокинов воспаления IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, TNF- $\alpha$  [76, 166]. Эластаза расщепляет рецепторы липополисахаридов CD14, что приводит к уменьшению экспрессии IL-8 и TNF- $\alpha$  в ответ на их стимуляцию [142]. Таким образом, НЭ снижает воспалительный ответ на внедрение микроорганизмов. НЭ способна блокировать рецептор комплемента CR3, тем самым нарушая связывание с ним таких лигандов, как фибриноген и молекула межклеточной адгезии 1 [95]. Эластаза выступая в качестве их конкурента, препятствует адгезии нейтрофилов к поверхности эндотелия и миграции в ткани, тем самым проявляя и усиливая свое противовоспалительное действие [16].

В литературе, описывается, что высокие значения НЭ в дыхательных путях у больных БА коррелируют с тяжестью течения заболевания [160]. В работе С.А. Собченко и соавторов выявлена роль НЭ в поддержание персистирующего воспаления в дыхательных путях у больных неаллергической БА [46].

Авторы предполагают, что активность НЭ обусловлена нейтрофильным типом воспаления, следствием которого является ремоделирование респираторного тракта у больных с неконтролируемым течением БА. За счет этого патогенетического аспекта определяется рефрактерность к ИГКС [57]. В работе Г.Б. Федосеева с соавторами при изучении роли НЭ у больных БА легкой и средней степени тяжести течения, выявлена корреляция повышенного уровня НЭ, количеством нейтрофилов в крови и низкими значениями ОФВ<sub>1</sub> [54]. Однако не было получено значимых изменений значений НЭ у больных в период обострения при БА легкой средней степени тяжести. По мнению авторов, повышенный уровень НЭ может приводить к деструктивным процессам в легочной ткани.

НЭ важную роль играет в патогенезе нейтрофильного воспаления дыхательных путей при ХОБЛ [132, 175]. Данные литературы свидетельствуют о том, что эмфизематозное поражение связано с прогрессирующим увеличением эластазы в альвеолярной интерстиции и с потерей эластина легких, что способствует развитию фиброзных изменений в бронхоальвеолярном аппарате [122, 125]. В работе G. Raone с соавторами выявлено, что высокий уровень НЭ в мокроте у больных ХОБЛ коррелировал с тяжестью течения заболевания и низкими величинами спирометрии [167]. Наиболее изучена роль НЭ в развитии эмфиземы легких при ХОБЛ [103, 111]. В обзоре А.В. Аверьянова описано, что НЭ играет значимую роль в патогенезе ХОБЛ, ее эффекты взаимосвязаны с множеством разных факторов воспаления и иммунитета [4].

Таким образом, НЭ может играть роль в патогенезе нейтрофильного воспаления дыхательных путей при БА и ХОБЛ. Изучение НЭ может быть полезно при анализе, диагностике фенотипа астмы и прогнозе эффективности топических стероидов.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1 Дизайн исследования

В исследование приняли участие 163 человека, из них 146 больных с диагнозами БА и ХОБЛ (89 женщин и 57 мужчин) и 17 здоровых лиц (10 женщин и 7 мужчин). Дизайн исследования: простой, открытый, клинический, сравнительный, проспективный, рандомизированный, контролируемый. Обследование пациентов проводилось с соблюдением принципов добровольности и конфиденциальности в соответствии с «Основами законодательства РФ об охране здоровья граждан» (Федеральный закон от 21 ноября 2011 года №323-ФЗ). Протокол клинического исследования одобрен Локальным этическим комитетом ГБОУ ДПО ПИУВ Минздрава России (протокол № 108 от 19.09.2014 г.)

Дизайн исследования составлен исходя из цели и задач (рисунок 2). На первом этапе из 163 человек в возрасте от 40 до 65 лет были образованы группы исследования:

- 1 группу (n=49) составили больные с неаллергической БА (НАБА). Диагноз НАБА был установлен путем исключения наличия атопии к неинфекционным аллергенам;

- 2 группу (n=50) составили больные с ХОБЛ. Диагноз ХОБЛ выставлялся на основании международного рекомендательного документа «Глобальная Стратегия лечения и профилактики хронической обструктивной болезни легких 2014» (GOLD).

- 3 группу сравнения (n=47) составили больные с аллергической БА (АБА). Диагноз АБА поставлен на основании отягощенного аллергологического анамнеза, подтвержденного положительными результатами специфических IgE-антител к пыльцевым, бытовым и эпидермальным аллергенам.

Диагнозы «бронхиальная астма» и «хроническая обструктивная болезнь легких» выставлены на основании международных рекомендательных документов GINA 2014 и GOLD 2014.

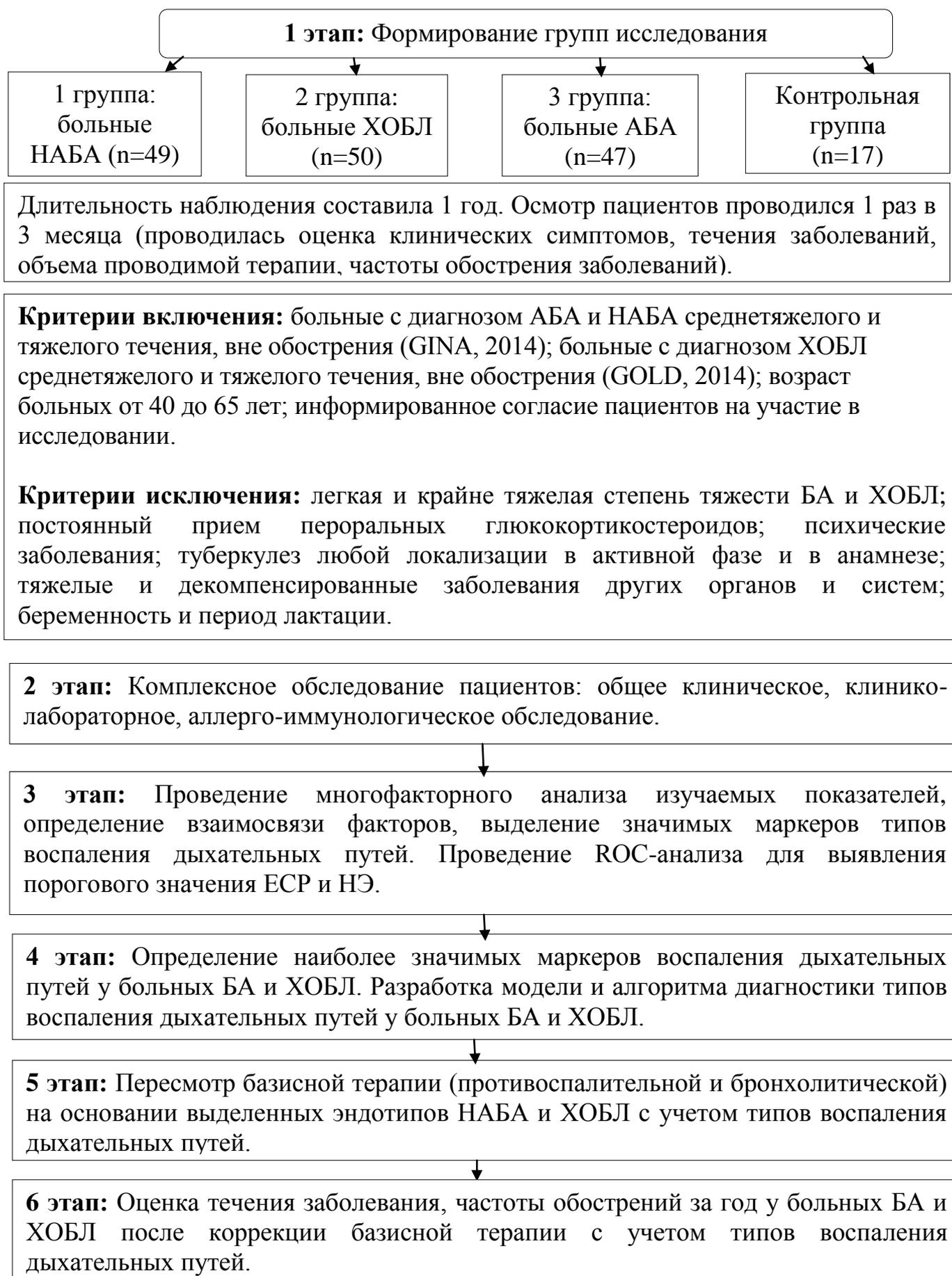


Рисунок 2 - Дизайн исследования

Контрольную группу составили 17 человек практически здоровых лиц сопоставимые по полу и возрасту с изучаемыми группами.

На втором этапе работы по дизайну производилось комплексное обследование пациентов: общее клиническое, клинико-лабораторное, аллерго-иммунологическое обследование.

На третьем этапе был проведен многофакторный анализ изучаемых показателей, определена взаимосвязь факторов, выделены значимые маркеры типов воспаления дыхательных путей. Проведен ROC-анализ для выявления порогового значения ESR и НЭ.

Четвертый этап включал определение наиболее значимых маркеров воспаления дыхательных путей у больных БА и ХОБЛ. Разработан алгоритм диагностики типов воспаления дыхательных путей у больных БА и ХОБЛ.

На пятом этапе был пересмотр базисной терапии (противовоспалительной и бронхолитической) на основании выделенных эндотипов НАБА и ХОБЛ с учетом типов воспаления дыхательных путей.

Шестой этап включал оценку течения заболевания, частоту обострений за год у больных БА и ХОБЛ после коррекции базисной терапии с учетом типов воспаления дыхательных путей.

Динамическое наблюдение за больными продолжалось в течение года. Пациенты осматривались 1 раз в 3 месяца (проводилась оценка клинических симптомов, течения заболеваний, объема проводимой терапии, частоты обострения заболеваний).

## **2.2 Клиническая характеристика обследованных групп больных**

В исследование участвовали 96 больных с диагнозом БА и 50 больных с диагнозом ХОБЛ. Подробная характеристика групп обследованных пациентов представлена в таблице 1.

Средний возраст больных НАБА составил 56 лет, средняя длительность течения заболевания - 10 лет. Мужчин было 13 человек (26,5%), женщин - 36 (73,5%). Частота обострения заболевания у больных наблюдалась 2,00 раза в год.

Таблица 1 - Клиническая характеристика обследованных групп

Показатели	Больные НАБА (n=49)	Больные ХОБЛ (n=50)	Больные АБА (n=47)	Контрольная группа (n=17)
Пол (мужчины/женщины), n (%)	13 (26,5) 36 (73,5)	37 (74,0) 13 (26,0)	7 (14,9) 40 (85,1)	7 (41,2) 10 (58,8)
Возраст, Ме, [P25%; P75%], лет	56,00 [48,00; 60,00]	57,00 [53,00; 62,00]	53,00 [50,00; 59,00]	54,00 [47,00; 58,00]
Длительность заболевания, Ме, [P25%; P75%], лет	10,00*** [5,00; 16,00]	9,00*#" [6,00; 16,00]	20,00* [11,00; 25,00]	0,00 [0,00; 0,00]
Частота обострения заболевания в год, Ме, [P25%; P75%]	2,00*** [0,00; 2,00]	2,03*#" [0,02; 3,00]	0,03* [0,00; 1,00]	0,00 [0,00; 0,00]
ФЖЕЛ, Ме, [P25%; P75%], л	2,07*** [1,79; 2,57]	1,70*#" [1,24; 2,13]	2,96 [2,19; 4,50]	2,83 [2,35; 3,12]
ФЖЕЛ, Ме, [P25%; P75%], %	73,00*** [54,00; 83,00]	48,00*#" [33,00; 64,00]	83,50 [74,00; 89,00]	81,00 [78,00; 85,00]
ОФВ <sub>1</sub> , Ме, [P25%; P75%], л	1,40*** [1,13; 1,96]	1,03*#" [0,96; 1,42]	3,22 [1,89; 4,43]	3,01 [2,76; 3,10]
ОФВ <sub>1</sub> , Ме, [P25%; P75%], %	60,00*** [47,00; 68,00]	37,50*#" [31,00; 50,00]	84,00 [64,80; 96,00]	82,00 [81,00; 85,00]
ИТ, Ме, [P25%; P75%], %	84,00* [70,00; 97,00]	66,00*#" [61,00; 68,00]	86,50 [84,00; 92,00]	87,00 [76,00; 92,00]

Примечание:

\* - статистически значимое различие показателей между группами больных НАБА, АБА, ХОБЛ и контрольной; \*\* - статистически значимое различие показателей между группами больных НАБА и АБА; # - статистически значимое различие показателей между группами больных ХОБЛ и НАБА; "- статистически значимое различие показателей между группами больных ХОБЛ и АБА (Mann-Whitney тест,  $p < 0,05$ ).

ФЖЕЛ – форсированная жизненная емкость легких,  
ОФВ<sub>1</sub> - объем форсированного выдоха в 1 секунду,  
ИТ – индекс Тиффно.

Чаще всего обострения БА были связаны с инфекционным фактором, возникали в межсезонье, в период респираторных вирусных инфекций, при переохлаждении. Во время обострения заболевания часто назначались противовирусные и антибактериальные препараты.

Показатели спирометрии у больных НАБА: форсированная жизненная емкость легких (ФЖЕЛ) 2,07 л (73,00%), ОФВ<sub>1</sub> 1,40 л (60,00%), индекс Тиффно (ИТ) 84,00%. Среднетяжелое течение заболевания наблюдалось у 18 (36,74%) больных НАБА, тяжелое течение - 31 (63,26%).

Средний возраст больных АБА составил 53 года, средняя длительность течения заболевания - 20 лет. В группе больных с АБА мужчин было 7 человек (14,9%), женщин - 40 (85,1%). Частота обострения заболевания наблюдалась 0,03 раза в год. Спирометрические показатели у больных АБА: ФЖЕЛ 2,96 л (83,50%), ОФВ<sub>1</sub> 3,22 л (84,00%), ИТ 86,50%. Среднетяжелое течение заболевания было у 30 (63,83%) больных АБА, тяжелое течение - 17 (36,17%). Поскольку АБА являлась группой сравнения, в исследование были включены пациенты с подтвержденным аллергоанамнезом и уровнем эозинофилов в крови и/или в мокроте выше 3%.

Больным БА проводилась клиническая оценка контроля заболевания согласно «GINA 2014» и включала частоту клинических симптомов в дневное, ночное время, потребность в препаратах скорой медицинской помощи ( $\beta_2$ -агонистах), толерантность к физическим нагрузкам (таблица 2). Контролируемое течение заболевания наблюдалось у 11 (22,44%) больных НАБА, частично контролируемое - 13 (26,54%), неконтролируемое - 25 (51,02%). Контролируемое течение заболевания было у 19 (40,42%) больных АБА, частично контролируемое - у 16 (34,04%), неконтролируемое - у 12 (25,54%). Среди сопутствующей патологии у больных НАБА встречались: пневмония у 10 (20,41%) человек, полипозный риносинусит - 7 (14,28%), гайморит - 32 (65,31%) (таблица 3).

У 27 (57,44%) больных АБА выявлен аллергический ринит. Атопия к аллергенам установлена: к пыльце деревьев, луговых и сорных трав у 17 (36,18%) больных АБА, к клещам бытовой пыли - 24 (51,06%) и к эпидермальным - 6 (12,76%).

Таблица 2 - Уровни контроля бронхиальной астмы (GINA, 2014)

Контроль симптомов БА (за последние 4 недели)	Уровень контроля симптомов БА		
	Хорошо контролируемая БА	Частично контролируемая БА	Неконтролируемая БА
Симптомы БА возникающие в дневное время чаще чем два раза в неделю	Ни одного из перечисленного	1-2 из перечисленного	3-4 из перечисленного
Любое ночное пробуждение вызванное БА			
Потребность в препаратах скорой помощи для купирования симптомов чаще чем дважды в неделю			
Любое ограничение активности, обусловленное БА			

Таблица 3 - Сопутствующая патология у больных неаллергической бронхиальной астмой

Сопутствующая патология	Больные НАБА (n=49)
Пневмония	10 (20,41%)
Полипозный риносинусит	7 (14,28%)
Гайморит	32 (65,31%)

Все больные БА получали лечение в соответствии со ступенчатой терапией, рекомендованной «GINA 2014» в эквивалентных дозах ИГКС (таблица 4). Выбор доз ИГКС соответствовал степени тяжести заболевания.

Таблица 4 - Эквивалентные суточные дозы (мкг) ингаляционных глюкокортикостероидов (GINA 2014)

ИГКС	Низкие дозы	Средние дозы	Высокие дозы
Беклометазон дипропионат	200-500	>500-1000	>1000
Будесонид	200-400	>400-800	>800
Флутиказон пропионат	100-250	>250-500	>500
Мометазон	110-220	>220-440	>440
Циклесонид	80-160	>160-320	>320

В группе больных НАБА средние дозы ИГКС получали 12 (24,49%), высокие дозы - 37 (75,51%) человек. В группе больных АБА средние дозы ИГКС назначены 33 (70,21%) больным, высокие дозы - 14 (29,78%) (таблица 5).

Таблица 5 - Объем базисной терапии у больных бронхиальной астмой

Дозы ИГКС	Больные НАБА (n=49)	Больные АБА (n=47)
Средние дозы	12 (24,49%)	33 (70,22%)
Высокие дозы	37 (75,51%)	14 (29,78%)

1/3 больных НАБА получала монотерапию ИГКС, остальные - комбинированную терапию: ИГКС в комбинации с длительно действующими  $\beta_2$ -агонистами (ДДБА). Базисная терапия у большинства больных АБА состояла из ИГКС и только 19 (40,42%) получали комбинированную терапию (таблица 6).

Таблица 6 - Препараты базисной терапии, получаемые больными бронхиальной астмой

Название препарата	Доза ИГКС, мкг	Режим дозирования	Больные НАБА (n=49)	Больные АБА (n=47)
Флутиказон пропионат, ДАИ	250	по 1 вдоху 2 раза	4 (8,16%)	12 (25,53%)
	500	по 1 вдоху 2 раза	8 (16,32%)	7 (14,90%)
Будесонид,	200	по 1 вдоху 2	2 (4,08%)	9 (19,15%)

ДПИ		раза		
Сальметерол/ Флутиказон, ДПИ	250	по 1 вдоху 2 раза	5 (10,21%)	3 (6,38%)
	500	по 1 вдоху 2 раза	12 (24,49%)	3 (6,38%)
Формотерол/ Будесонид, ДПИ	200	по 1 капсуле каждого препарата 2 раза	3 (6,12%)	9 (19,15%)
	400	по 1 капсуле каждого препарата 2 раза	15 (30,62%)	4 (8,51%)

Примечание:

ДАИ – дозированный аэрозольный ингалятор;

ДПИ – дозированный порошковый ингалятор.

Больные НАБА характеризовались более тяжелым течением заболевания, частыми обострениями, низкими показателями ФВД, получали высокие дозы ИГКС в сравнении с больными АБА.

У больных ХОБЛ длительность течения заболевания в среднем составила 9 лет. Мужчин было 37 (74,0%) человек, женщин - 13 (26,0%). Средний возраст обследованных составил 57 лет. Частота обострения заболевания наблюдалась 2,03 раза в год. У больных ХОБЛ данные ФВД были: ФЖЕЛ 1,70 л (48,00%), ОФВ<sub>1</sub> 1,03 л (37,50%), ИТ 66,0%. Среднетяжелое течение отмечалось у 20 (40,00%) больных ХОБЛ, тяжелое течение – 30 (60,00%). Все больные ХОБЛ в соответствии «GOLD 2014» получали базисную терапию (таблица 7, таблица 8).

Таблица 7 - Базисная терапия у больных хронической обструктивной болезнью легких

Базисная терапия	Больные ХОБЛ (n=50)
ДДАХП/ДДБА	8 (16,00%)
ДДАХП/ДДБА/ИГКС	42 (84,00%)

Примечание:

ДДАХП – длительно действующие антихолинергические препараты;

ДДБА – длительно действующие  $\beta_2$  – агонисты;

ИГКС – ингаляционный глюкокортикостероиды.

Таблица 8 - Препараты базисной терапии, получаемые больными хронической обструктивной болезнью легких

Название препарата, разовая доза (мкг)	Режим дозирования	Больные ХОБЛ (n=50)
Гликопиррония бромид/индакатерол, 50/110мкг	по 1 капсуле 1 раз в сутки	5 (10,00%)
Тиотропия бромид/олодотерол, 2,5/2,5 мкг	по 2 вдоха 1 раз в сутки	3(6,00%)
Сальметерол/флутиказон пропионат, 50/500 мкг и Тиотропия бромид, 18 мкг	по 1 вдоху 2 раза в сутки  по 1 капсуле 1 раз в сутки	17 (34,00%)
Формотерол/будесонид, 12/400 мкг и Гликопиррония бромид, 50 мкг	по 1 капсуле каждого препарата 2 раза по 1 капсуле 1 раз в сутки	25 (50,00%)

Бронхолитическую терапию (длительно действующие антихолинергические препараты (ДДАХП) в сочетании с ДДБА) получали 8 (16,00%) человек, лечение ИГКС в сочетании ДДАХП/ДДБА получали 42 пациента (84,00%).

### 2.3 Методы исследования

В работе применялись общеклинические (лабораторные и инструментальные), аллерго-иммунологические методы исследования и статистическая обработка полученных результатов.

#### 2.3.1 Общее клиническое обследование

Общие клинические, лабораторные, инструментальные методы выполнены на базе ГБУЗ «Клиническая больница №4» г. Пенза (главный врач - Водопьянов А.А.) в отделениях аллергологии и пульмонологии.

Общее клиническое обследование включало: клинический осмотр пациентов, сбор анамнеза, оценку степени тяжести течения заболевания, общий

анализ крови с подсчетом процентного и абсолютного значения нейтрофилов, эозинофилов, исследование общего анализа индуцированной мокроты (ИМ), исследование функции внешнего дыхания (ФВД) с оценкой бронхиальной обратимости.

Для оценки выраженности клинических симптомов ХОБЛ использовалась шкала mMRC (modified Medical Research Council Dyspnea Scale) (таблица 9).

Таблица 9 - Шкала mMRC

Степень	Тяжесть	Описание
0	Нет	Я чувствую одышку только при сильной физической нагрузке
1	легкая	Я задыхаюсь, когда быстро иду по ровной местности или поднимаюсь по пологому холму
2	средняя	Из-за одышки я хожу по ровной местности медленнее, чем люди того же возраста, или у меня останавливается дыхание, когда я иду по ровной местности в привычном для меня темпе
3	тяжелая	Я задыхаюсь после того, как пройду примерно 100 м, или после нескольких минут ходьбы по ровной местности
4	очень тяжелая	У меня слишком сильная одышка, чтобы выходить из дому, или я задыхаюсь, когда одеваюсь или раздеваюсь

Для получения ИМ, больные делали ингаляцию сальбутамолом 100 мкг по 2 вдоха. Затем через 30 минут делали ингаляции через ультразвуковой небулайзер 3% раствором натрия хлорида сеансами по 7 минут. У больных которых не получалось получить мокроту, продолжали ингаляции с постепенным увеличением раствора на 1% (т.е. последовательно использовали 3-4-5%-ный раствор). После ингаляций больные тщательно полоскали рот кипяченой водой. Затем мокрота собиралась в кабинете для сбора мокроты в стерильный контейнер с плотно закрывающейся крышкой [171].

Исследование ФВД проводилось на калиброванном аппарате «MicroLab» (Великобритания). За трое суток до исследования исключались антигистаминные препараты, теофиллины, за 12-24 часов -  $\beta_2$ -агонисты длительного действия, за 8 часов -  $\beta_2$ -агонисты короткого действия, холинолитические препараты.

Исследование проводилось в утреннее время, предварительно пациентам объяснили правильность выполнения дыхательных маневров. Во время исследования больные находились в положении сидя с зажимом на носу. Спирометрия проводилась в соответствии с требованиями Американского Торакального Общества (ATS) [157] и Российских клинических рекомендаций [63]. Производили оценку следующих показателей: ОФВ<sub>1</sub> измерял и в абсолютных (л) и процентных величинах (%), ФЖЕЛ измеряли в абсолютных (л) и процентных величинах (%), ИТ- это соотношение ОФВ<sub>1</sub> к ФЖЕЛ, измеряли в процентных величинах (%).

Проводили тест на обратимость бронхиальной обструкции [63]. После ингаляционного приема 400 мкг сальбутамола, повторное спирометрическое исследование проводилось через 15 минут. Для расчета теста на обратимость бронхообструкции использовалась формула:

$$\frac{\text{ОФВ}_1 \text{ после бронхолитика} - \text{ОФВ}_1 \text{ до бронхолитика}}{\text{ОФВ}_1 \text{ до бронхолитика}} \times 100\% \quad (1)$$

Проба считалась положительной, если прирост ОФВ<sub>1</sub> составлял 12% и более от исходного (или 200 мл и более).

### 2.3.2 Аллерго-иммунологические методы исследования

Аллерго-иммунологические исследования проводились сотрудниками Центральной научной лаборатории (ЦНИЛ) ПИУВ - филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (заведующая ЦНИЛ - д.б.н., профессор Баранова Н.И.).

Определение уровня общего IgE и специфических IgE антител к неинфекционным аллергенам проводили в сыворотке крови методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) коммерческими наборами фирмы «АлкорБио» (Россия) на анализаторе Stat Fax 3200.

Для оценки спонтанной и ФГА-индуцированной продукции цитокинов клетками иммунной системы был проведен тест *in vitro* [8, 59]. Забор крови производился натощак, из локтевой вены в стерильные стеклянные пробирки с гепарином. Полученную кровь разбавляли 1:5 стерильной средой 199 с солями

Хэнкса и глутамином производства «ПанЭко» (Россия) с добавлением гентамицина (50 мкг/мл). Для оценки спонтанной продукции цитокинов к разведенной (1:5) крови добавляли стерильную среду 199 с солями Хэнкса и глутамином. Для оценки фитогемагглютинин (ФГА)-индуцированной продукции клеток к разведенной (1:5) крови добавляли ФГА («ПанЭко», Россия) в конечной концентрации 50 мкг/мл. ФГА был выбран в качестве митогена из-за способности избирательно активировать Т-клетки, которые продуцируют изучаемые в исследовании цитокины. После инкубации в течение 24 часов при 37°C пробирки охлаждали при комнатной температуре, центрифугировали 20 минут при 2000 об/мин, отбирали супернатанты и замораживали при -20°C до анализа. Определение концентрации IL-4, IL-10, IL-6, IL-8 в супернатантах проводили методом твердофазного ИФА при помощи тест-систем «Интерлейки-4-ИФА-Бест», «Интерлейки-10-ИФА-Бест», «Интерлейки-6-ИФА-Бест», «Интерлейки-8-ИФА-Бест» (ЗАО «Вектор-Бест», Россия). Концентрацию цитокинов выражали пг/мл.

### **2.3.3 Определение эозинофильного катионного протеина и нейтрофильной эластазы**

Определение уровня эозинофильного катионного белка (ЕСР) в сыворотке крови определяли методом ИФА при помощи тест-системы «Human Eosinophil Cationic Protein Elisa Kit» (Aviscera Bioscience, США). Концентрацию выражали в нг/мл. Определение уровня нейтрофильной эластазы (НЭ) в сыворотке крови определяли с помощью тест-систем для ИФА «Human PMN-Elastase Platinum ELISA» (eBioscience, Австрия). Концентрацию выражали в нг/мл.

Для иммунологических, биохимических исследований применены образцы крови, сыворотки и плазмы, полученные от исследуемых больных и здоровых людей. Сыворотку отделяли методом центрифугирования и хранили до использования в замороженном состоянии при температуре минус 20°C.

## **2.4 Методы статистической обработки данных**

Статистическая обработка данных проводилась с использованием общепринятых методов вариационной статистики [15, 40]. Статистическая

обработка результатов проводилась с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0 и программы SPSS для проведения ROC-анализа. При сравнении групп между собой использовали критерий Манна-Уитни. Показатели представлены в виде медианы (Me) и квартилей (P25%; P75%). Проведен многофакторный анализ для определения значимых факторов и их взаимосвязи между собой с использованием метода корреляционного анализа по Спирмену. Для определения пороговых значений показателей и их чувствительности и специфичности использовали ROC-анализ. Качественные признаки оценивались и сравнивались по методу  $\chi^2$ . Результаты считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 3.1 Роль цитокинов в иммунопатогенезе различных форм бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких

#### 3.1.1 Характеристика цитокинов у больных бронхиальной астмой

Воспаление дыхательных путей является основным патогенетическим звеном БА, которое реализуется с помощью цитокинов и других иммунокомпетентных клеток. Помимо спонтанной продукции IL-4, IL-10, IL-6, IL-8, изучили индуцированную продукцию. Индуцированная продукция цитокинов наиболее значима в изучение патогенеза заболеваний и показывает резервные возможности иммунокомпетентных клеток в ответ на действие патогенного фактора.

При изучении уровня цитокинов у больных НАБА и АБА был выявлен разнонаправленный характер изменений.

По уровню спонтанной продукции IL-4 у больных НАБА и АБА статистически достоверных различий в сравнении с контрольной группой выявлено не было ( $p > 0,05$ ). Индуцированная продукция IL-4, как у больных НАБА, так и больных АБА в сравнении с результатами контрольной группы достоверно различалась ( $p < 0,05$ ) (рисунок 3). Уровень индуцированной продукции IL-4, как у больных НАБА (13,40 пг/мл), так и у больных АБА был статистически повышен (17,30 пг/мл) в сравнении с контрольной группой (8,90 пг/мл) ( $p < 0,05$ ). IL-4 является медиатором Th2 типа иммунного реагирования, что приводит к формированию аллергического воспаления, его повышение в первую очередь характерно для больных с АБА. Возможно, повышение IL-4 при НАБА можно объяснить, активацией воспалительных процессов через неспецифические факторы (эотоксин) [183].

Спонтанная продукция IL-10 у больных НАБА составила 8,95 пг/мл и у больных АБА - 17,50 пг/мл, что статистически значимо выше в сравнении со здоровыми лицами ( $p < 0,05$ ).

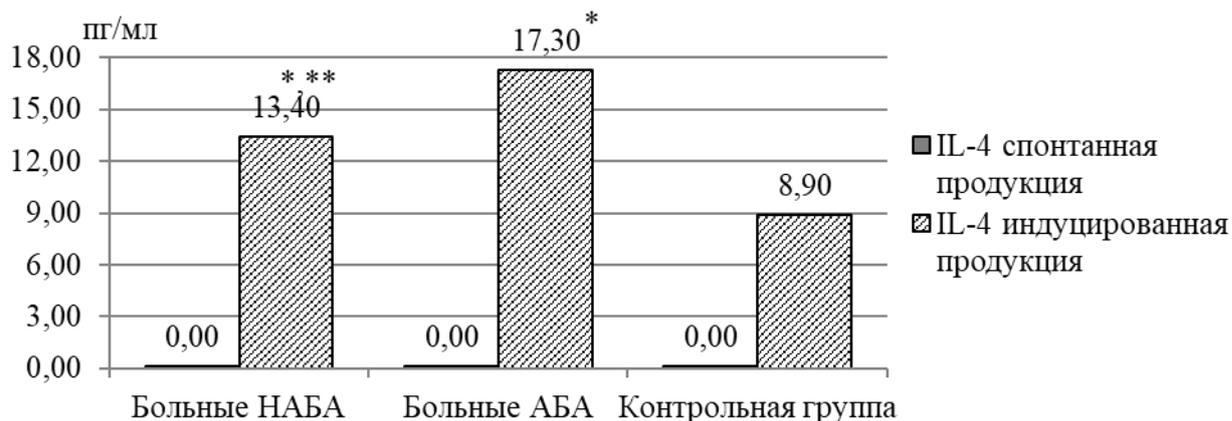


Рисунок 3 – Уровень спонтанной и индуцированной продукции IL-4 у больных бронхиальной астмой и контрольной группой (\*  $p < 0,05$ , Mann-Whitney тест)

Индуцированная продукция IL-10 была достоверно повышена, как у больных НАБА, так и у больных АБА, по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,05$ ) (рисунок 4). IL-10 выполняет регуляторную роль в балансе типов иммунного ответа при формировании воспаления в дыхательных путях не только у больных АБА, но и у больных НАБА. Повышение уровня IL-4 и IL-10, как спонтанной, так и индуцированной продукции отражает преобладание Th2 типа иммунного реагирования в патогенезе заболевания.

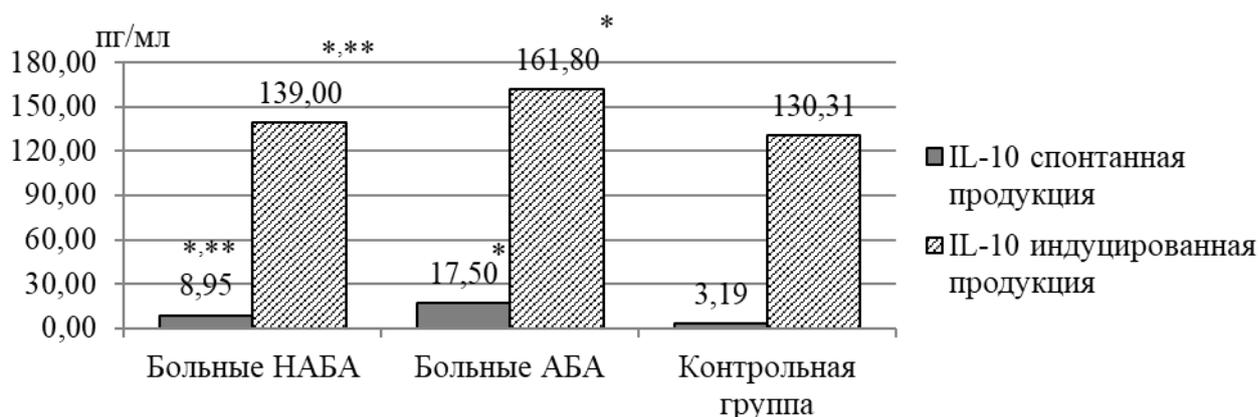


Рисунок 4 – Уровень спонтанной и индуцированной продукции IL-10 у больных бронхиальной астмой и контрольной группой (\*  $p < 0,05$ , Mann-Whitney тест)

Уровень спонтанной и индуцированной продукции IL-6 у больных НАБА достоверно был выше по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,05$ ) (рисунок

5). У больных АБА не получено статистически достоверных различий по содержанию, как спонтанной, так и индуцированной продукции ИЛ-6 в сравнении со здоровыми лицами ( $p > 0,05$ ). ИЛ-6 способствует формированию фиброза бронхиального дерева, что может приводит к более тяжелому и неконтролируемому течению заболевания, низкому ответу на терапию ИГКС при астме, что характерно для клинического течения НАБА.



Рисунок 5 – Уровень спонтанной и индуцированной продукции ИЛ-6 у больных бронхиальной астмой и контрольной группой (\*  $p < 0,05$ , Mann-Whitney тест)

У больных НАБА отмечено достоверно значимое повышение спонтанной и индуцированной продукции ИЛ-8 (586,20 пг/мл и 9005,00 пг/мл, соответственно) в сравнении со здоровыми лицами (427,40 пг/мл и 6014,00 пг/мл, соответственно) ( $p < 0,05$ ). Достоверных отличий значений ИЛ-8 между группами больных АБА и контрольной группой выявлено не было ( $p > 0,05$ ) (рисунок 6). Известно, что ИЛ-8 продуцируется нейтрофилами и преобладание его продукции у больных НАБА возможно способствует поддержанию нейтрофильного воспаления в дыхательных путях.

При сравнении полученных результатов в группах больных БА индуцированная продукция ИЛ-4 была достоверно выше у больных АБА ( $p < 0,05$ ). Отмечалась статистическая разница уровня спонтанной и индуцированной продукции ИЛ-10 между группами больных НАБА (8,95 пг/мл и 139,00 пг/мл, соответственно) и АБА (17,50 пг/мл и 161,80 пг/мл, соответственно) между собой ( $p < 0,05$ ). ИЛ-4 является ключевым цитокином в



Рисунок 6 – Уровень спонтанной и индуцированной продукции IL-8 у больных бронхиальной астмой и контрольной группой (\*  $p < 0,05$ , Mann-Whitney тест)

развитии аллергического воспаления, что подтверждено исследованием. Индуцированная продукция IL-6 у больных НАБА (9918,00 пг/мл) превышала значение аналогичного показателя у больных АБА (9860,00 пг/мл), разница статистически достоверна ( $p < 0,05$ ). У больных НАБА спонтанная и индуцированная продукция IL-8 достоверно повышена в сравнении с больными АБА ( $p < 0,05$ ). IL-8 продуцируется нейтрофилами в ответ на инфекционный агент. При НАБА повышение уровня данных цитокинов, может быть обусловлено наличием хронических очагов инфекции и тем самым персистенцией нейтрофильного воспаления.

Таким образом, IL-4, IL-10, IL-6, IL-8 играют значимую роль в иммунопатогенезе при разных формах БА. Варианты БА значительно отличаются друг от друга по преобладанию продукции цитокинов и, тем самым, по типу иммунного реагирования. При АБА преобладают цитокины IL-4 и IL-10, участвующие в Th2 типе иммунного ответа, что характерно для формирования аллергического (эозинофильного) типа воспаления респираторного тракта. При НАБА повышен уровень цитокинов IL-6 и IL-8, высвобождение которых происходит под влиянием активации инфекционных агентов (бактерий, вирусов) и токсинов. Иммунный ответ при НАБА вероятен не-Th2 типу иммунного реагирования.

### 3.1.2 Характеристика цитокинов у больных хронической обструктивной болезнью легких

Значимую роль в патогенезе воспаления дыхательных путей при ХОБЛ играет состояние иммунной реактивности организма.

В исследовании изучены цитокины IL-4, IL-10, IL-6, IL-8 у больных ХОБЛ.

При изучении показателей индуцированной и спонтанной продукции IL-4 и IL-10 достоверных различий между группой больных ХОБЛ и контрольной группой не выявлено ( $p > 0,05$ ) (рисунок 7, рисунок 8). Отсутствие изменений спонтанной и индуцированной продукции цитокинов IL-4 и IL-10 у больных ХОБЛ может быть связано, что данные цитокины не имеют ведущего значения в патогенезе воспаления при ХОБЛ.



Рисунок 7 – Уровень спонтанной и индуцированной продукции IL-4 у больных хронической обструктивной болезнью легких и контрольной группы (\* $p < 0,05$ , Mann-Whitney тест)

По уровню IL-6 выявлены отличия, как по спонтанной, так и по индуцированной продукции у больных с ХОБЛ в сравнении с группой контроля (рисунок 9). Спонтанная продукция IL-6 у больных ХОБЛ достоверно выше (293,30 пг/мл) по сравнению с контрольной группой, где данный показатель составил 54,10 пг/мл ( $p < 0,05$ ). При оценке индуцированной продукции IL-6 выявлен достоверно повышенный уровень - 9886,00 пг/мл у больных ХОБЛ в сравнении со здоровыми лицами - 9844,00 пг/мл ( $p < 0,05$ ).



Рисунок 8 – Уровень спонтанной и индуцированной продукции IL-10 у больных хронической обструктивной болезнью легких и контрольной группы (\*  $p < 0,05$ , Mann-Whitney тест)



Рисунок 9 – Уровень спонтанной и индуцированной продукции IL-6 у больных хронической обструктивной болезнью легких и контрольной группы (\*  $p < 0,05$ , Mann-Whitney тест)

Именно с IL-6 связывают выработку белков острой фазы воспаления и влияние на ремоделирование бронхов, за счет повреждения эпителия дыхательных путей [200], эти патологические изменения бронхиального дерева являются основными в патогенезе ХОБЛ.

При исследовании спонтанной и индуцированной продукции IL-8 также отмечалось статистически значимое различие у больных ХОБЛ в сравнении с группой контроля (рисунок 10). У больных ХОБЛ наблюдалось достоверное повышение показателей, как спонтанной, так и индуцированной продукции IL-8 ( $p < 0,05$ ). Спонтанная продукция IL-8 у больных ХОБЛ составила 587,10 пг/мл в

сравнении с данными здоровой группы - 427,40 пг/мл ( $p < 0,05$ ). Индуцированная продукция IL-8 была в 1,5 раза выше в группе больных ХОБЛ в сравнении со здоровыми лицами ( $p < 0,05$ ). IL-8 является продуктом, активацию которого в первую очередь связывают с гранулоцитами, прежде всего нейтрофилами, в ответ на токсические (в частности, курение) и бактериальные патогены.

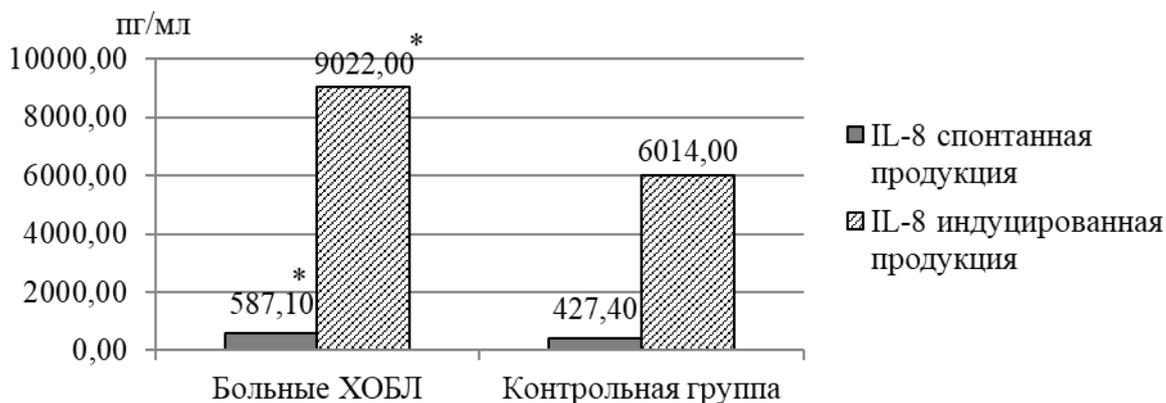


Рисунок 10 – Уровень спонтанной и индуцированной продукции IL-8 у больных хронической обструктивной болезнью легких и контрольной группы (\*  $p < 0,05$ , Mann-Whitney тест)

Исходя из результатов исследования уровня цитокинов у больных ХОБЛ можно заключить, что воспалительный процесс дыхательных путей обусловлен иммунологическими изменениями. Для больных ХОБЛ характерно повышение спонтанной и индуцированной продукции IL-6 и IL-8. Эти цитокины участвуют в формировании нейтрофильного типа воспаления дыхательных путей у больных ХОБЛ.

### 3.1.3 Сравнительная характеристика цитокинов у больных неаллергической бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких

При сравнительной оценке спонтанной и индуцированной продукции IL-4, IL-10, IL-6, IL-8 в сыворотке крови у больных НАБА и ХОБЛ были получены следующие результаты (таблица 10). У больных НАБА отмечался статистически высокий уровень индуцированной продукции IL-4 (13,40 пг/мл) по сравнению с больными ХОБЛ (9,60 пг/мл) ( $p < 0,05$ ).

Также выявлены различия по IL-6 и IL-8 в группах больных НАБА и ХОБЛ. У больных НАБА был достоверно повышен уровень IL-6, как спонтанной (399,00 пг/мл), так и индуцированной продукции (9918,00 пг/мл) по сравнению с больными ХОБЛ (293,30 пг/мл и 9886,00 пг/мл, соответственно) ( $p < 0,05$ ). Уровень индуцированной продукции IL-8 был статистически выше у больных ХОБЛ (9022,00 пг/мл) в сравнении со значениями, полученными у больных НАБА (9005,00 пг/мл) ( $p < 0,05$ ). Не получено статистически достоверных различий по уровню спонтанной продукции IL-8 в обеих группах ( $p > 0,05$ ). По всем изучаемым цитокинам IL-4, IL-10, IL-6, IL-8 у больных ХОБЛ достоверно выявлены различия с больными АБА ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, цитокины имеют важное значение в иммунопатогенезе воспаления дыхательных путей при БА и ХОБЛ. При НАБА, как и при ХОБЛ преобладает нейтрофильный тип воспаления дыхательных путей, что проявляется повышенной продукцией IL-6 и IL-8. IL-6 участвует в формировании необратимой обструкции бронхов, фиброза легочной ткани, что снижает эффективность проводимой терапии ИГКС у больных БА. IL-8 поддерживает персистенцию инфекционного, нейтрофильного типа воспаления респираторного тракта.

Таким образом, НАБА имеет схожие черты с ХОБЛ. При НАБА и ХОБЛ преобладает нейтрофильный тип воспаления дыхательных путей, который все же более выражен при ХОБЛ.

Подводя итог данной главе, необходимо отметить, что патогенез АБА характеризуется Th2 иммунным ответом, что проявляется повышенной индуцированной продукцией IL-4 и спонтанной и индуцированной продукцией IL-10. НАБА принципиально отличается от АБА, как продукцией наиболее значимых цитокинов, так и типом иммунного ответа. Повышение спонтанной и индуцированной продукции IL-6 и IL-8 говорит о преобладании не-Th2 иммунного ответа, что характерно для больных НАБА и ХОБЛ. Иммунопатогенез заболеваний отражает тип воспаления дыхательных путей.

Таблица 10 - Сравнительная оценка спонтанной и индуцированной продукции IL-4, IL-10, IL-6, IL-8 в сыворотке крови у больных бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких.

Цитокины, пг/мл	Больные НАБА (n=49) Me [P25%; P75%]	Больные ХОБЛ (n=50) Me [P25%; P75%]	Больные АБА (n=47) Me [P25%; P75%]	Контрольная группа (n=17) Me [P25%; P75%]
IL-4 (спонт.)	0,00 [0,00-0,00]	0,00 [0,00-0,00]	0,00 [0,00-0,30]	0,00 [0,00-0,00]
IL-4 (индуц.)	13,40 <sup>*,**</sup> [10,00-17,60]	9,60 <sup>#,n</sup> [2,40-21,60]	17,30 <sup>*</sup> [13,40-24,80]	8,90 [2,40-16,90]
IL-10 (спонт.)	8,95 <sup>*,**</sup> [3,20-15,50]	3,01 <sup>#,n</sup> [2,30-9,40]	17,50 <sup>*</sup> [3,50-21,60]	3,19 [2,40-7,50]
IL-10 (индуц.)	139,00 <sup>*,**</sup> [120,60-193,20]	129,03 <sup>*</sup> [96,80-155,50]	161,80 <sup>*</sup> [141,10-273,40]	130,31 [105,60-145,20]
IL-6 (спонт.)	399,00 <sup>*,**</sup> [239,90-494,70]	293,30 <sup>*,#,n</sup> [170,20-370,50]	94,40 [31,90-275,60]	54,10 [27,90-94,40]
IL-6 (индуц.)	9918,00 <sup>*,**</sup> [9886,00-9930,00]	9886,00 <sup>*,#,n</sup> [9860,00-9912,00]	9860,00 [9844,00-9886,00]	9844,00 [9840,00-9849,00]
IL-8 (спонт.)	586,20 <sup>*,**</sup> [567,30-587,00]	587,10 <sup>*,n</sup> [586,00-587,40]	450,50 [401,10-585,50]	427,40 [387,00-450,50]
IL-8 (индуц.)	9005,00 <sup>*,**</sup> [8064,00-9034,00]	9022,00 <sup>*,#,n</sup> [9002,00-9044,00]	6846,00 [6022,00-9016,00]	6014,00 [5786,00-6068,00]

Примечание: \* - статистически значимое различие показателей между группами больных НАБА, АБА, ХОБЛ и контрольной; \*\* - статистически значимое различие показателей между группами больных НАБА и АБА; # - статистически значимое различие показателей между группами больных ХОБЛ и НАБА; n - статистически значимое различие показателей между группами больных ХОБЛ и АБА (Mann-Whitney тест,  $p < 0,05$ ).

спонт. - содержание цитокинов в супернатанте при спонтанной продукции клетками;

индуц. - содержание цитокинов в супернатанте при ФГА-индуцированной продукции клетками.

### **3.2 Биомаркеры типов воспаления дыхательных путей у больных бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких**

Тип воспаления дыхательных путей оценивается по показателям клеточного состава крови, а именно по количеству эозинофилов. Но это не всегда бывает достаточно для определения типа воспаления, так как уровень эозинофилов, показатель лабильный и зависит от многих факторов. Поэтому были изучены дополнительные маркеры, которые могут принимать участие в воспалении дыхательных путей при БА и ХОБЛ. Результаты приведенных обследований представлены в таблице 11.

При исследовании ИМ достоверно высокий уровень нейтрофилов выявлен у больных НАБА (73,00% от всех клеток в образце) и ХОБЛ (78,00% от всех клеток в образце) по сравнению со здоровыми лицами и больными АБА ( $p < 0,05$ ). У больных АБА количество нейтрофилов в ИМ статистически не различалось по сравнению со здоровыми лицами ( $p > 0,05$ ). Содержание эозинофилов в ИМ было достоверно выше у больных АБА в сравнении с больными НАБА и контрольной группой ( $p < 0,05$ ). Достоверных различий уровня эозинофилов в ИМ у больных ХОБЛ в сравнении с группой контроля обнаружено не было ( $p > 0,05$ ). Тем не менее, высокий уровень эозинофилов в ИМ (более 3%) отмечался не у всех больных НАБА, только у 12 (24,48%) больных. Также выявлено, что у 5 (10,00%) больных ХОБЛ количество эозинофилов было повышено (более 3%).

При сравнении групп больных НАБА и АБА было получено достоверно значимое повышенное количество нейтрофилов в ИМ у больных НАБА (73,00% от всех клеток в образце) по сравнению с АБА (62,00% от всех клеток в образце) ( $p < 0,05$ ). Содержание эозинофилов в ИМ у больных АБА было статистически выше в сравнении с больными НАБА ( $p < 0,05$ ).

При анализе цитологического исследования ИМ больных ХОБЛ с разными формами БА, определялось достоверное повышенное содержание нейтрофилов у больных ХОБЛ в сравнении, как с больными НАБА, так и с больными АБА

Таблица - 11 Маркеры типов воспаления дыхательных путей у больных бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких

Показатель	Больные НАБА (n=49) Me [P25%; P75%]	Больные ХОБЛ (n=50) Me [P25%; P75%]	Больные АБА (n=47) Me [P25%; P75%]	Контрольная группа (n=17) Me [P25%; P75%]
Количество нейтрофилов в мокроте, %	73,00*** [69,00-78,00]	78,00*#," [72,00-82,00]	62,00 [57,00-64,00]	61,00 [57,50-63,50]
Количество эозинофилов в мокроте, %	1,03*** [1,00-4,00]	1,00#," [0,00-2,00]	10,00* [7,00-13,00]	0,00 [0,00-1,00]
Количество нейтрофилов в крови, %	67,00*** [58,00-72,00]	72,00*#," [64,00-75,00]	56,00 [49,00-62,00]	54,00 [48,00-58,50]
Количество нейтрофилов в крови, 10 <sup>9</sup> /л	5,30*** [4,20-6,20]	7,30*#," [5,70-8,40]	3,96 [3,13-5,40]	3,92 [2,88-4,20]
Количество эозинофилов в крови, %	1,50*** [1,00-2,00]	1,00#," [0,00-1,06]	3,00* [1,00-4,00]	0,50 [0,00-1,00]
Количество эозинофилов в крови, 10 <sup>9</sup> /л	0,16*** [0,05-0,21]	0,05#," [0,01-0,17]	0,20* [0,12-0,33]	0,01 [0,01-0,06]
ЕСР, нг/мл	13,75** [9,96-21,90]	10,41#," [9,06-18,98]	21,30* [20,20-22,60]	9,25 [8,46-22,10]
НЭ, нг/мл	150,00*** [90,00-230,00]	175,00*#," [140,00-320,00]	70,00 [50,00-110,00]	80,00 [60,00-120,00]

Примечание: \* - статистически значимое различие показателей между группами больных НАБА, АБА, ХОБЛ и контрольной группой; \*\* - статистически значимое различие показателей между группами больных НАБА и АБА; # - статистически значимое различие показателей между группами больных ХОБЛ и НАБА; " - статистически значимое различие показателей между группами больных ХОБЛ и АБА (Mann-Whitney тест, p<0,05).

( $p < 0,05$ ). Уровень эозинофилов в ИМ у больных ХОБЛ значительно различался в сравнении с больными НАБА и больными АБА ( $p < 0,05$ ).

При изучении клеточного состава крови отмечался повышенный уровень нейтрофилов, как в процентном отношении, так и в абсолютных значениях у больных НАБА (67,00% и  $5,30 \times 10^9/\text{л}$ , соответственно) и у больных ХОБЛ (72,00% и  $7,30 \times 10^9/\text{л}$ , соответственно) в сравнении с контрольной группой (54,00% и  $3,92 \times 10^9/\text{л}$ , соответственно) ( $p < 0,05$ ). По содержанию нейтрофилов в крови у больных АБА и здоровыми лицами статистически значимых различий не выявлено ( $p > 0,05$ ). Количество эозинофилов, как в процентном отношении, так и в абсолютных значениях было повышено у больных НАБА (1,50% и  $0,16 \times 10^9/\text{л}$ , соответственно) и АБА (3,00% и  $0,20 \times 10^9/\text{л}$ , соответственно) в сравнении с контрольной группой (0,50% и  $0,01 \times 10^9/\text{л}$ , соответственно) ( $p < 0,05$ ). Высокий уровень эозинофилов в крови (более 3%) наблюдался только у 10 (20,40%) больных НАБА. Статистически значимых различий по уровню эозинофилов, как в процентном отношении, так и в абсолютных значениях у больных ХОБЛ в сравнении с группой контроля выявлено не было ( $p > 0,05$ ). У 8 (16,00%) больных ХОБЛ выявлен повышенный уровень эозинофилов в крови (более 3%).

При сравнении групп больных НАБА и АБА определялось, что количество нейтрофилов крови, как в процентном отношении, так в абсолютном значении у больных НАБА было статистически повышено по сравнению с больными АБА ( $p < 0,05$ ). У больных АБА уровень эозинофилов крови в процентном отношении был достоверно выше в сравнении с больными НАБА ( $p < 0,05$ ). Аналогичная тенденция наблюдалась и в отношении эозинофилов в абсолютном значении.

Выявлена достоверно статистическая разница по количеству нейтрофилов и эозинофилов крови, как в процентном отношении, так в абсолютном значении у больных ХОБЛ по сравнению с больными НАБА и больными АБА ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, у больных АБА наблюдалось повышенное количество эозинофилов, как в ИМ, так и в крови. У больных НАБА и ХОБЛ преобладали

нейтрофилы в ИМ и крови. Отмечалось, что у больных НАБА и ХОБЛ высокий уровень эозинофилов в ИМ не всегда совпадал с повышенным уровнем в крови.

Это объясняется тем, что количество эозинофилов в крови лабильный параметр и зависит от многих факторов, терапии и сопутствующей патологии. В связи с этим, были исследованы дополнительные специфичные маркеры, такие как ЕСР и НЭ, которые могут принимать участие в воспалении дыхательных путей при БА и ХОБЛ. Данные маркеры отражают не только количество эозинофилов и нейтрофилов, но и их функциональную активность.

Выявлено, что у 76,59% (n=36) больных АБА, 28,57% (n=14) больных НАБА и у 12,00% (n=6) больных ХОБЛ значения ЕСР были повышены.

Уровень ЕСР у больных АБА составил 21,30 нг/мл (рисунок 11), что статистически выше в сравнении с больными НАБА (13,75 нг/мл), ХОБЛ (10,41 нг/мл) и контрольной группой (9,25 нг/мл) ( $p < 0,05$ ) Достоверно значимых различий по уровню ЕСР у больных НАБА и ХОБЛ в сравнении со здоровыми лицами выявлено не было ( $p > 0,05$ ).

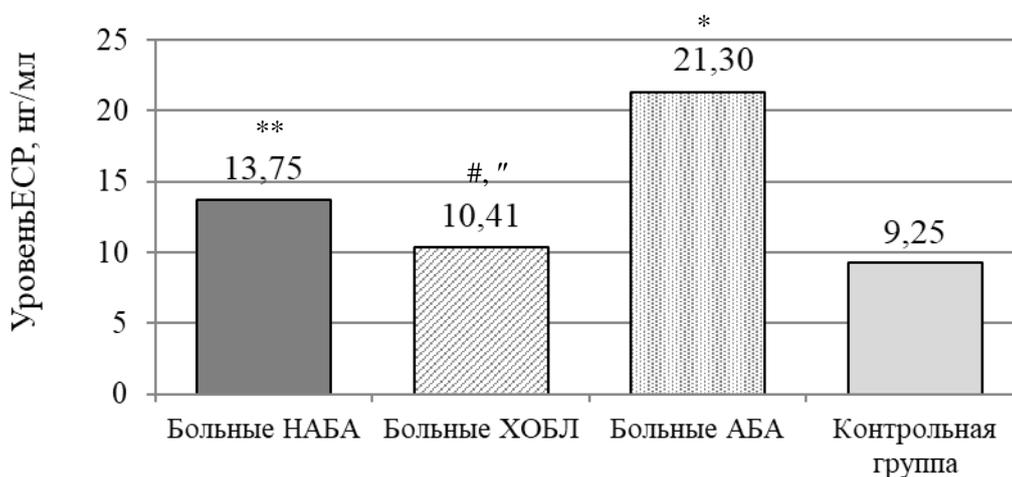


Рисунок 11 – Уровень эозинофильного катионного протеина у больных с различными формами бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких

Примечание: \* - статистически значимое различие показателей между группами больных НАБА, АБА, ХОБЛ и контрольной группой; \*\* - статистически значимое различие показателей между группами больных НАБА и АБА; # - статистически значимое различие показателей между группами больных ХОБЛ и НАБА; " - статистически значимое различие показателей между группами больных ХОБЛ и АБА (Mann-Whitney тест,  $p < 0,05$ ).

Выявлен повышенный уровень НЭ у 69,38% (n=34) больных НАБА и у 82,00% (n=41) больных ХОБЛ. Значения НЭ у больных НАБА составили - 150,00 нг/мл, у больных ХОБЛ - 175,00 нг/мл, что достоверно выше по сравнению с больными АБА - 70,00 нг/мл и со здоровыми лицами - 80,00 нг/мл ( $p < 0,05$ ) (рисунок 12). При сравнении групп больных НАБА и ХОБЛ, НЭ достоверно выше у больных ХОБЛ в сравнении с больными НАБА ( $p < 0,05$ ). Статистически значимых различий по уровню НЭ у больных АБА и контрольной группой выявлено не было ( $p > 0,05$ ).

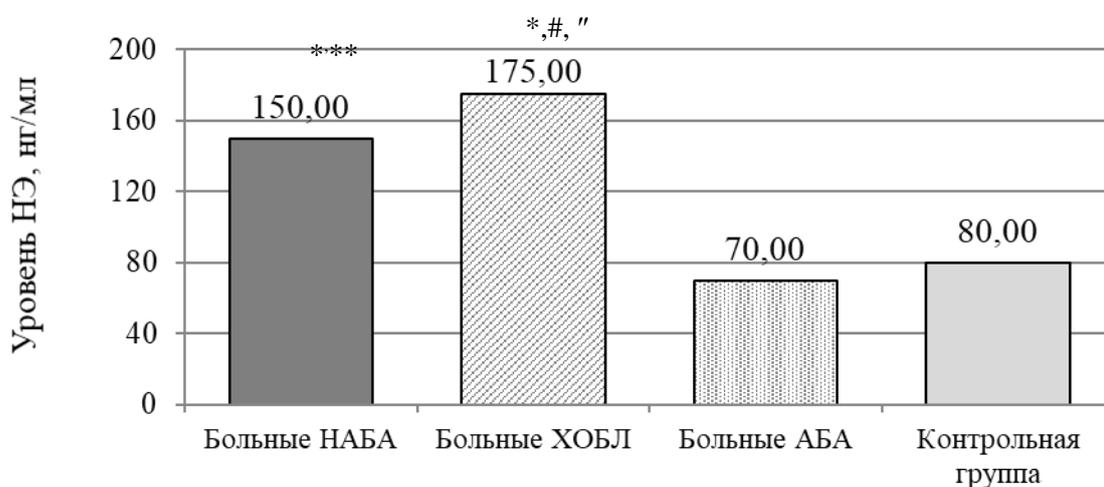


Рисунок 12 – Уровень нейтрофильной эластазы у больных с различными формами бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких

Примечание: \* - статистически значимое различие показателей между группами больных НАБА, АБА, ХОБЛ и контрольной группой; \*\* - статистически значимое различие показателей между группами больных НАБА и АБА; # - статистически значимое различие показателей между группами больных ХОБЛ и НАБА; '' - статистически значимое различие показателей между группами больных ХОБЛ и АБА (Mann-Whitney тест,  $p < 0,05$ ).

ЕСР значительно повышен у больных АБА, являясь продуктом эозинофилов, рассматривается его значимость при эозинофильном типе воспаления дыхательных путей. Уровень НЭ высокий у больных НАБА и ХОБЛ, что подтверждает ее роль при нейтрофильном типе воспаления. Таким образом, ЕСР и НЭ играют значимую роль в патогенезе типов воспаления дыхательных путей при БА и ХОБЛ.

Тип воспаления дыхательных путей имеет общие физиологические закономерности и не имеет специфических признаков по нозологии. Тип воспаления дыхательных путей может отличаться интенсивностью процесса, а качественная характеристика типа воспаления схожа у больных, как БА, так и ХОБЛ.

Для оценки значимости ЕСР и НЭ, как специфических маркеров воспаления и их сравнения, определения пороговых значений этих параметров было выделено две группы пациентов. Группа А - пациенты с эозинофильный тип воспаления дыхательных путей и группа Б - пациенты с незозинофильным (нейтрофильным) типом (рисунок 13). В группу А (n=65, 44,52 %) вошли больные с АБА (n=47), НАБА (n=10) и ХОБЛ (n=8), у которых был повышенный уровень эозинофилов в крови (более 3%) в соответствии с международными и российскими рекомендательными документами [61, 62, 120]. Группу Б (n=81, 55,48%) составили больные НАБА (n=39) и ХОБЛ (n=42), уровень эозинофилов в крови которых не превышал 3%.

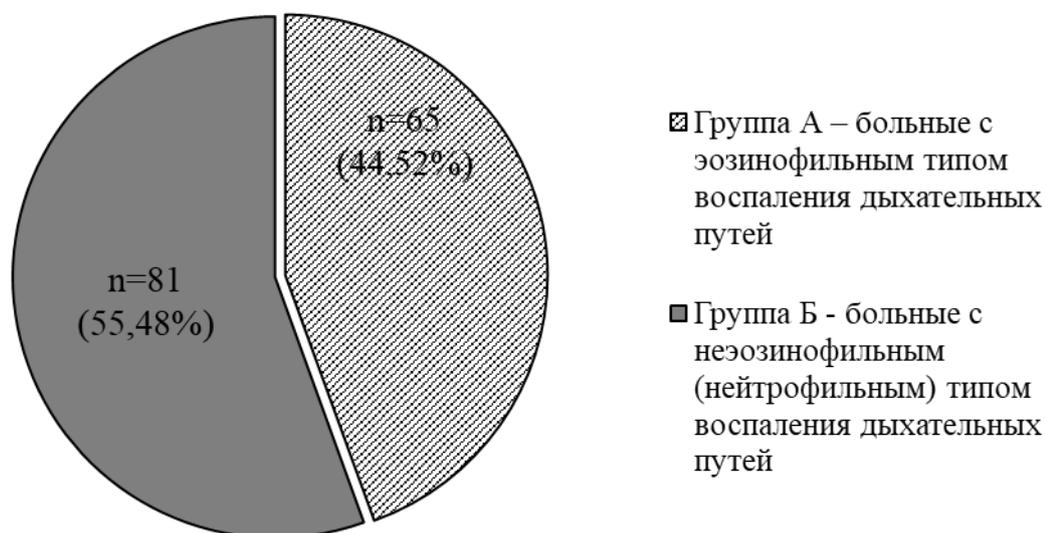


Рисунок 13 - Распределение больных бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких по типам воспаления дыхательных путей

При сравнении групп А и Б между собой и контрольной, отмечалось статистически значимое различие, как по уровню ЕСР, так и по уровню НЭ в крови ( $p < 0,05$ ).

У пациентов в группе А уровень ЕСР составил 22,00 нг/мл, что статистически значимо выше в сравнении с больными в группе Б, у которых данный показатель составил 9,96 нг/мл и контрольной группой - 9,25 нг/мл ( $p < 0,05$ ) (рисунок 14).

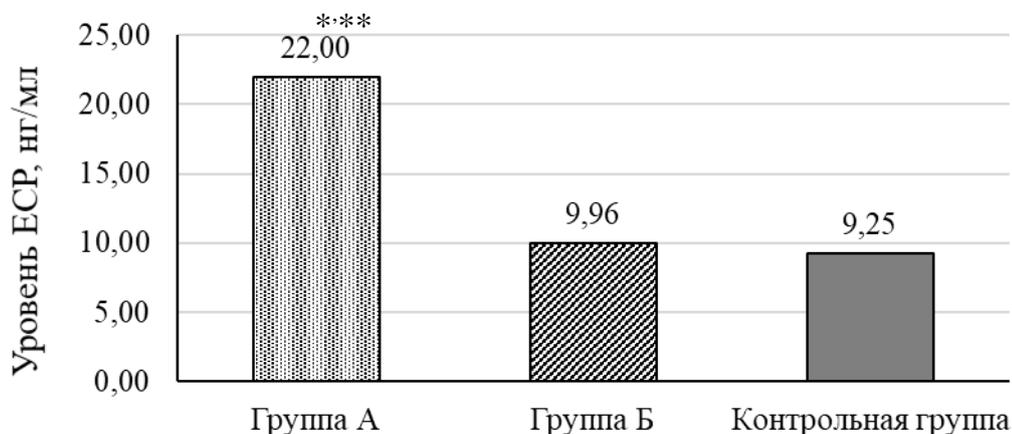


Рисунок 14 - Уровень эозинофильного катионного протеина при разных типах воспаления у больных с бронхообструктивными заболеваниями

Примечание: \* - статистически значимое различие показателя между группами больных А, Б и контрольной группой; \*\* - статистически значимое различие показателя между группами больных А и Б (Mann-Whitney тест,  $p < 0,05$ ).

Группа А - больные с эозинофильным типом воспаления дыхательных путей (уровень эозинофилов в крови более 3%),

Группа Б – больные с незозинофильным (нейтрофильным) типом воспаления дыхательных путей (уровень эозинофилов в крови менее 3%).

Уровень НЭ у пациентов в группе Б был достоверно выше в сравнении с больными в группе А и контрольной группой ( $p < 0,05$ ) (рисунок 15).

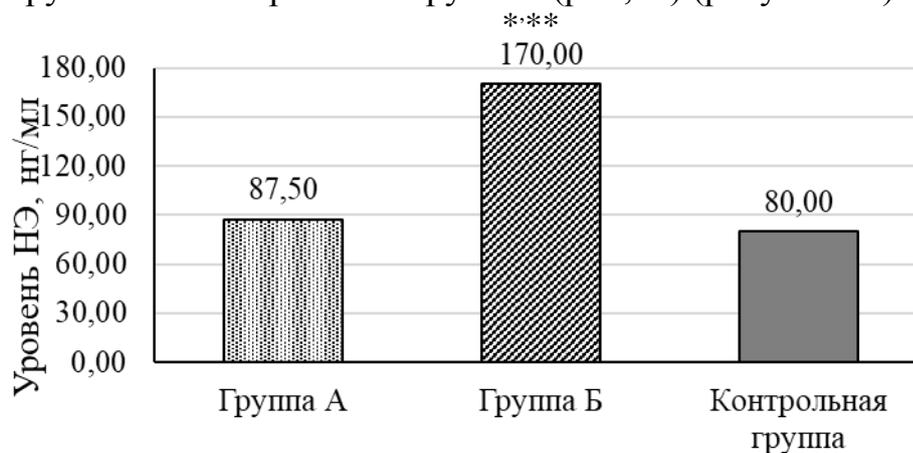


Рисунок 15 - Уровень нейтрофильной эластазы при разных типах воспаления у больных с бронхообструктивными заболеваниями

Примечание: \* - статистически значимое различие показателя между группами больных А, Б и контрольной группой; \*\* - статистически значимое различие показателя между группами больных А и Б (Mann-Whitney тест,  $p < 0,05$ ).

Группа А - больные с эозинофильным типом воспаления дыхательных путей (уровень эозинофилов в крови более 3%),

Группа Б – больные с незозинофильным (нейтрофильным) типом воспаления дыхательных путей (уровень эозинофилов в крови менее 3%).

По данным результатам исследования выявлена роль изучаемых показателей в формировании типов воспаления дыхательных путей при данной патологии.

Таким образом, ECP и НЭ могут быть рассмотрены в качестве специфических биомаркеров типов воспаления дыхательных путей при БА и ХОБЛ.

### **3.3 Модель эозинофильного и нейтрофильного типов воспаления дыхательных путей у больных бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких**

Для определения наиболее значимых маркеров типов воспаления и их взаимосвязи с типом воспаления дыхательных путей у больных БА и ХОБЛ, применен многофакторный анализ. Для решения поставленной задачи первым этапом многофакторного анализа стала оценка корреляционной связи независимых факторов-предикторов с типом воспаления дыхательных путей у больных БА и ХОБЛ. Многофакторный анализ параметров был проведен между больными группой А ( $n=65$ ) и больными группой Б ( $n=81$ ). В многофакторный анализ вошли многочисленные изучаемые параметры. Анализ выделил наиболее значимые параметры, которые достоверно коррелируют с типом воспаления дыхательных путей.

Для построения модели типа воспаления была задана принадлежность к типу воспаления в баллах. Для нейтрофильного типа воспаления дыхательных путей критерий принадлежности обозначили как 0 баллов, для эозинофильного типа воспаления дыхательных путей - 1 балл.

Корреляционный анализ показал (таблица 12) наличие сильной достоверной зависимости критерия принадлежности к типу воспаления дыхательных путей от параметров ECP ( $R = 0,7162$ ,  $p = 0,0000$ , прямая связь), количества нейтрофилов в

ИМ (НфМ) ( $R = -0,7255$ ,  $p = 0,0000$ , обратная связь), количества эозинофилов в ИМ (ЭозМ) ( $R = 0,6499$ ,  $p = 0,0000$ , прямая связь), НЭ ( $R = -0,6085$ ,  $p = 0,0000$ , обратная связь), ИТ ( $R = 0,6040$ ,  $p = 0,0000$ , прямая связь), абсолютного значения нейтрофилов в крови (НфК абс) ( $R = -0,5925$ ,  $p = 0,0000$ , обратная связь), количества нейтрофилов крови в процентном отношении (НфК%) ( $R = -0,5199$ ,  $p = 0,0000$ , обратная связь), а также наличие умеренной достоверной связи с параметрами ОФВ<sub>1</sub> в литрах ( $R = 0,4985$ ,  $p = 0,0000$ , прямая связь), количества эозинофилов крови в процентном отношении (ЭозК%) ( $R = 0,4595$ ,  $p = 0,0000$ , прямая связь) и эозинофилов крови в абсолютном значении (ЭозК абс) ( $R = 0,4021$ ,  $p = 0,0000$ , прямая связь). С остальными параметрами связь была обнаружена слабая, в виду чего в дальнейшем анализе данные показатели не использовались.

Таблица 12 - Результаты корреляционного анализа

Пара переменных	Ранговые корреляции Спирмена ПД попарно удалены Отмеченные корреляции значимы на уровне $p < 0,05000$			
	Число наблюдений	Спирмена R	t(N-2)	p-уровень
Тип & ОФВ <sub>1</sub> , л	146	0,498496	6,9005	0,000000
Тип & ИТ	146	0,603960	9,0933	0,000000
Тип & НфМ	146	-0,725459	-12,6485	0,000000
Тип & ЭозМ	146	0,649909	10,2616	0,000000
Тип & НфК %	141	-0,519889	-7,1753	0,000000
Тип & НфК абс	141	-0,592458	-8,6705	0,000000
Тип & ЭозК %	145	0,459527	6,1871	0,000000
Тип & ЭозК абс	139	0,402146	5,1410	0,000001
Тип & ECP	138	0,716216	11,9683	0,000000
Тип & НЭ	138	-0,608526	-8,9430	0,000000

Кроме того, в результате корреляционного анализа была выявлена сильная достоверная корреляционная зависимость между независимыми параметрами, превышающая величину силы связи между данными параметрами и зависимым критерием принадлежности к нейтрофильному или эозинофильному типу воспаления дыхательных путей, в частности ОФВ<sub>1</sub>, л и ИТ ( $R = 0,6326$ ,  $p =$

0,0000), НфК% и НфК абс ( $R = 0,6800$ ,  $p = 0,0000$ ), ЭозК% и ЭозК абс ( $R = 0,6430$ ,  $p = 0,0000$ ), НфМ и ЭозМ ( $R = -0,7436$ ,  $p = 0,0000$ ), ЭозК абс и НфК% ( $R = -0,4325$ ,  $p = 0,0000$ ). Таким образом, в модель вошли следующие наиболее значимые параметры: ЭозМ, НфК абс, ЕСР, НЭ.

Следующим этапом стало построение непосредственно модели для дифференциации типов воспаления дыхательных путей на эозинофильный и нейтрофильный у больных БА и ХОБЛ, методом пошагового регрессионного анализа. Коэффициенты модели (В) для факторов, включенных в модель, и их значимость даны в таблице 13.

В таблице 13 также приводятся оценки качества модели:

- коэффициент детерминации ( $R^2=0,64864689$ ), определяющий ее информационную значимость;
- значение F-критерия ( $F(4,79)=39,307$ ) и уровень значимости модели ( $p<0,0000$ ), определяющие статистическую значимость модели.

Таблица 13 - Результаты регрессионного анализа

N=84	Итоги Гребневой регрессии для зависимой переменной: Тип I=0,10000 R= 0,81583060 R2= 0,66557957 Скоррект.R2=0 ,64864689 F(4,79)=39,307 p<0,0000 Стандартная ошибка оценки: 0,29123					
	БЕТА	Стандартная ошибка БЕТА	В	Стандартная ошибка В	t(79)	p- уровень
Свободный член			0,582018	0,155572	3,74116	0,000346
ЭозМ	0,228753	0,077693	0,020649	0,007013	2,94433	0,004249
НфК абс	-0,285791	0,071349	-0,058274	0,014548	-4,00550	0,000139
ЕСР	0,299919	0,072655	0,020487	0,004963	4,12797	0,000090
НЭ	-0,243850	0,072875	-0,001058	0,000316	-3,34612	0,001256

Степень влияния независимых факторов на критерий принадлежности пациентов к эозинофильному или нейтрофильному типу воспаления дыхательных путей (таблица 14) рассчитывался, исходя из величины стандартизированных коэффициентов регрессии БЕТА (по результатам регрессионного анализа) с помощью формулы:

$$K_j = \frac{100 \times BETA_j}{\sum_j |BETA_j|} \times R^2, \text{ в \%} \quad (2)$$

Таблица 14 - Степень влияния факторов на критерий риска

Фактор	BETA	Степень влияния $K_j$ , %
ЭозМ	0,077693	17,55457869
НфК абс	0,071349	16,12116452
ЕСР	0,072655	16,41625262
НЭ	0,072875	16,46596118

Таким образом, наибольшее влияние на критерий принадлежности к эозинофильному или нейтрофильному типу воспаления дыхательных путей оказывает фактор ЭозМ (17,6%), чуть меньше НЭ (16,5%), ЕСР (16,4%) и НфК абс (16,1%).

Модель для диагностики типов воспаления дыхательных путей у больных БА и ХОБЛ имеет вид:

$$y = 0,0206 \times x_1 - 0,0583 \times x_2 + 0,0205 \times x_3 - 0,0011 \times x_4 + 0,582, \quad (3)$$

где  $y$  - тип воспаления дыхательных путей,

$x_1$  - количество эозинофилов в индуцированной мокроте (%),

$x_2$  - абсолютное значение нейтрофилов в крови ( $10^9$ /л),

$x_3$  - количество ЕСР в крови (нг/мл),

$x_4$  - количество НЭ в крови (нг/мл).

Знаки коэффициентов модели отражают прямую (коэффициенты со знаком +) и обратную (коэффициенты со знаком -) связь типа воспаления дыхательных путей с независимыми факторами.

В таблице 15 приведены данные дисперсионного анализа полученной регрессионной модели и оценки ее информативности. Вклад факторов, включенных в модель (Регресс. = 13,33536), составляет 66,6% от общей суммы квадратичных отклонений параметра  $y$ , а часть вклада (33,4%) вносят неучтенные (случайные) факторы (Остатки = 6,70035), что свидетельствует об

информационной способности модели. По величине F-критерия,  $F = 39,30740$  с уровнем значимости  $p=0,00000$  модель можно считать значимой и достоверной.

Таблица 15 - Результаты дисперсионного анализа

	Сумма квадратов	Степень свободы	Среднее квадратичное	F	p-уровень
Регресс.	13,33536	4	3,333841	39,30740	0,000000
Остатки	6,70035	79	0,084815		
Итого	20,03571				

Полученная модель диагностики воспаления дыхательных путей на эозинофильный и нейтрофильный типы у больных БА и ХОБЛ, позволила путем подстановки в формулу значений показателей ЭозМ, НфК абс, ЕСР и НЭ получить критерий принадлежности к нейтрофильному или эозинофильному типу воспаления дыхательных путей.

При значении:  $y = 0-0,4$  баллов - это нейтрофильный тип воспаления дыхательных путей у больных БА и ХОБЛ;  $y = 0,6$  и выше баллов - это эозинофильный тип воспаления дыхательных путей у больных БА и ХОБЛ.

Таким образом, предложенная модель повышает точность диагностики типов воспаления дыхательных путей у больных БА и ХОБЛ, что позволяет оптимально подходить к терапии заболеваний и повышать ее эффективность. Модель диагностики типов воспаления дыхательных путей у больных БА и ХОБЛ имеет высокую информационную значимость (коэффициент детерминации  $R^2=0,64864689$ ) и статистическую ценность ( $F(4,79)=39,307$ ;  $p<0,0000$ ).

Однако, логично возникает вопрос, если результат математической формулы будет попадать в промежуток от 0,41 до 0,59 баллов; то к какому типу воспаления отнести таких пациентов. В связи, с чем было принято решение провести дополнительно ROC-анализ наиболее значимых независимых показателей, в результате чего получены пороговые значения данных показателей для определения типа воспаления дыхательных путей у больных БА и ХОБЛ.

Данный анализ позволил определить пороговое значение интервальной переменной-предиктора, на основании которого можно распределять наблюдения в две альтернативные группы (эозинофильное и нейтрофильное воспаление дыхательных путей) с заданным уровнем чувствительности и специфичности теста для точного определения результата.

На рисунке 16 изображена ROC-кривая для параметра ЕСР в группах больных с БА и ХОБЛ. Как видно из рисунка, полученная ROC-кривая не проходит через верхний левый угол, но достаточно сильно приближается к нему, что позволяет построить качественный классификатор по величине показателя ЕСР с высокой чувствительностью и специфичностью.

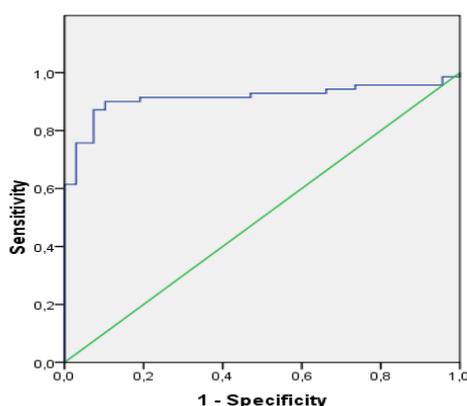


Рисунок 16 - ROC-кривая для уровня эозинофильного катионного протеина в крови у больных группы А и Б

Примечание:

Группа А - больные с эозинофильным типом воспаления дыхательных путей (уровень эозинофилов в крови более 3%),

Группа Б – больные с неэозинофильным (нейтрофильным) типом воспаления дыхательных путей (уровень эозинофилов в крови менее 3%).

Как видно из таблицы А.1 (Приложение А) площадь под кривой для переменной «уровень ЕСР» равна 0,913, что высоко значимо отличается от 0,5 ( $p=0,000$ ), что свидетельствует о высокоточной классификации на основании данной переменной. Координаты кривой приведены в таблице А.2 (Приложение А).

Если исходить из требований максимальной чувствительности и специфичности теста ( $\max(\text{Sensitivity}+\text{Specificity})=1,797$ ), то пороговым значением уровня ЕСР следует признать 19,92 нг/мл. В данном случае

$\max(\text{Sensitivity} + \text{Specificity}) = 1,80$  для двух значений показателя ЕСР = 19,21 нг/мл и 19,92 нг/мл. Показатель ЕСР 19,21 нг/мл с чувствительностью 90,00%, специфичностью 89,70% и показатель ЕСР 19,92 нг/мл с чувствительностью 87,00%, специфичностью 92,60%. Случай  $\min|\text{Sensitivity} - \text{Specificity}| = 0,003$  соответствует значению показателя ЕСР = 19,21 нг/мл с чувствительностью 90,00%, специфичностью 89,70%, менее значимо в диагностическом отношении. На основании вышесказанного, в качестве порогового значения был выбран уровень показателя ЕСР, равный 19,92 нг/мл с большим уровнем специфичности.

Таким образом, для пациентов, имеющих значения параметра ЕСР 19,92 нг/мл и выше характерен эозинофильный тип воспаления дыхательных путей.

Следующим этапом анализа было построение ROC-кривой для параметра «уровень НЭ». На рисунке 17 изображена ROC-кривая для параметра НЭ в группах больных с БА и ХОБЛ. Как видно из рисунка 17, полученная ROC-кривая аналогично показателю ЕСР также не проходит через верхний левый угол, но проходит сравнительно близко к нему и позволяет построить достаточно качественный классификатор по величине данного параметра с высокой чувствительностью и специфичностью.

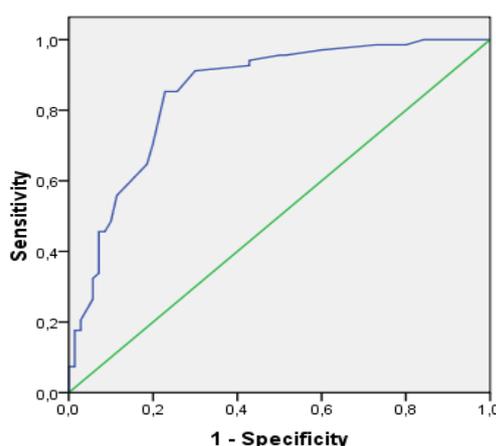


Рисунок 17 - ROC-кривая для уровня нейтрофильной эластазы в крови у больных группы А и Б

Примечание:

Группа А - больные с эозинофильным типом воспаления дыхательных путей (уровень эозинофилов в крови более 3%),

Группа Б - больные с незозинофильным (нейтрофильным) типом воспаления дыхательных путей (уровень эозинофилов в крови менее 3%).

Как видно из таблицы А.3 (Приложение А) площадь под кривой для переменной «уровень НЭ» равна 0,851, что высоко значимо отличается от 0,5 ( $p = 0,000$ ) и свидетельствует о высокоточной классификации на основании данной переменной с высоким уровнем чувствительности и специфичности.

Анализируя данные таблицы А.4 (Приложение А) можно сделать вывод, что пороговым значением параметра «уровень НЭ» является 135,00 нг/мл с чувствительностью 85,30% и специфичностью теста 77,10%, для которого выполняются требования максимальной чувствительности и специфичности теста ( $\max (\text{Sensitivity} + \text{Specificity}) = 1,624$ ), а также требования баланса минимальной чувствительности и специфичности ( $\min |\text{Sensitivity} - \text{Specificity}| = 0,082$ ).

На рисунке 18 изображена ROC-кривая для параметра ЭозМ в группах больных с БА и ХОБЛ. Как видно из рисунка, полученная ROC-кривая не проходит через верхний левый угол, но достаточно сильно приближается к нему, что позволяет построить качественный классификатор по величине показателя ЭозМ с высокой чувствительностью и специфичностью.

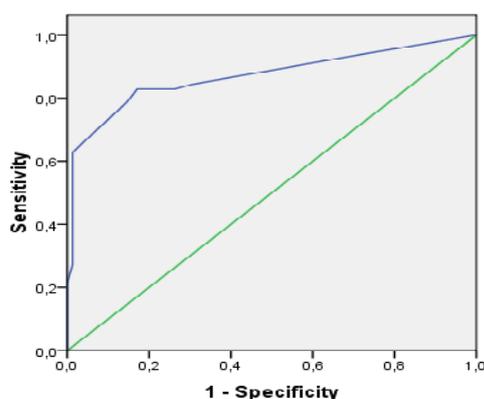


Рисунок 18 - ROC-кривая для уровня эозинофилов в индуцированной мокроте у больных группы А и Б

Примечание:

Группа А - больные с эозинофильным типом воспаления дыхательных путей (уровень эозинофилов в крови более 3%),

Группа Б – больные с незозинофильным (нейтрофильным) типом воспаления дыхательных путей (уровень эозинофилов в крови менее 3%).

Как видно из таблицы А.5 (Приложение А), площадь под кривой для переменной «уровень ЭозМ» равна 0,870, что высоко значимо отличается от 0,5

( $p=0,000$ ), что свидетельствует о высокоточной классификации на основании данной переменной. Координаты кривой приведены в таблице А.6 (Приложение А).

Если исходить из требований максимальной чувствительности и специфичности теста ( $\max(\text{Sensitivity}+\text{Specificity})=1,66$ ), то пороговым значением уровня ЭозМ следует признать 3,50%. Случай  $\min|\text{Sensitivity}-\text{Specificity}|=0,00$  соответствует тому же значению показателя ЭозМ равный 3,50% с чувствительностью 82,90%, специфичностью 82,90%.

Таким образом, для пациентов, имеющих значения параметра ЭозМ 3,50% и выше характерен эозинофильный тип воспаления дыхательных путей.

Была построена ROC-кривая для параметра «уровень НфК абс». На рисунке 19 изображена ROC-кривая для параметра НфК абс в группах больных с БА и ХОБЛ. Как видно из рисунка 19, полученная ROC-кривая аналогично показателю НфК абс не проходит через верхний левый угол, но проходит сравнительно близко к нему и позволяет построить достаточно качественный классификатор по величине данного параметра с высокой чувствительностью и специфичностью.

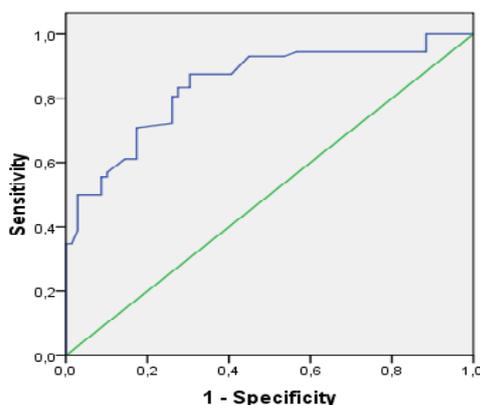


Рисунок 19 - ROC-кривая для уровня абсолютного значения нейтрофилов в крови у больных группы А и Б

Примечание:

Группа А - больные с эозинофильным типом воспаления дыхательных путей (уровень эозинофилов в крови более 3%),

Группа Б – больные с незозинофильным (нейтрофильным) типом воспаления дыхательных путей (уровень эозинофилов в крови менее 3%).

Как видно из таблицы А.7 (Приложение А) площадь под кривой для переменной «уровень НфК абс» равна 0,842, что высоко значимо отличается от 0,5 ( $p = 0,000$ ) и свидетельствует о высокоточной классификации на основании данной переменной с высоким уровнем чувствительности и специфичности. Координаты кривой приведены в таблице А.8 (Приложение А).

Если исходить из требований максимальной чувствительности и специфичности теста ( $\max(\text{Sensitivity} + \text{Specificity}) = 1,57$ ), то пороговым значением уровня НфК абс следует признать  $4,65 \times 10^9/\text{л}$  с чувствительностью 87,50%, специфичностью 69,60%. Случай  $\min|\text{Sensitivity} - \text{Specificity}| = 0,02$  соответствует значению показателя НфК абс равному  $5,38 \times 10^9/\text{л}$  с чувствительностью 72,20%, специфичностью 73,90%. На основании вышесказанного, в качестве порогового значения был выбран уровень показателя НфК абс, равный  $5,38 \times 10^9/\text{л}$  с большим уровнем специфичности.

Таким образом, для пациентов, имеющих значения параметра НфК абс  $5,38 \times 10^9/\text{л}$  и выше характерен нейтрофильный тип воспаления дыхательных путей.

В результате проведенного ROC-анализа определены пороговые значения ЕСР, НЭ, ЭозМ и НфК абс, позволяющие более точно определять тип воспаления дыхательных путей у больных БА и ХОБЛ (рисунок 20). Исходя из полученных результатов уровень ЕСР равный 19,92 нг/мл и выше (чувствительность 90,00% и специфичность 89,70%), и ЭозМ равный 3,50% и выше (чувствительность 82,90%, специфичность 82,90%), можно рассматривать в качестве дополнительных критериев эозинофильного воспаления дыхательных путей. В то же время уровень НЭ, равный 135,00 нг/мл и выше (чувствительность 85,30% и специфичностью 77,10%), и НфК абс равному  $5,38 \times 10^9/\text{л}$  и выше (чувствительность 72,20%, специфичность 73,90%) являются критериями нейтрофильного воспаления дыхательных путей.



рекомендуется назначать только в дополнение к проводимой бронхолитической терапии у больных ХОБЛ с БА в анамнезе, с эозинофилией крови (содержание эозинофилов в крови вне обострения более 3%) и частыми обострениями заболевания (2 и более среднетяжелых обострений в течение 1 года или хотя бы 1 тяжелое обострение, потребовавшее госпитализации) [121].

С помощью разработанной модели, были выделены эндотипы НАБА и ХОБЛ с учетом типов воспаления дыхательных путей (рисунок 21). Выявлено, что эндотип НАБА с эозинофильным типом воспаления встречается у 32,65% больных, эндотип НАБА с нейтрофильным типом воспаления – у 67,35%, эндотип ХОБЛ с эозинофильным типом воспаления - у 22,00%, эндотип ХОБЛ с нейтрофильным типом - у 78,00%.

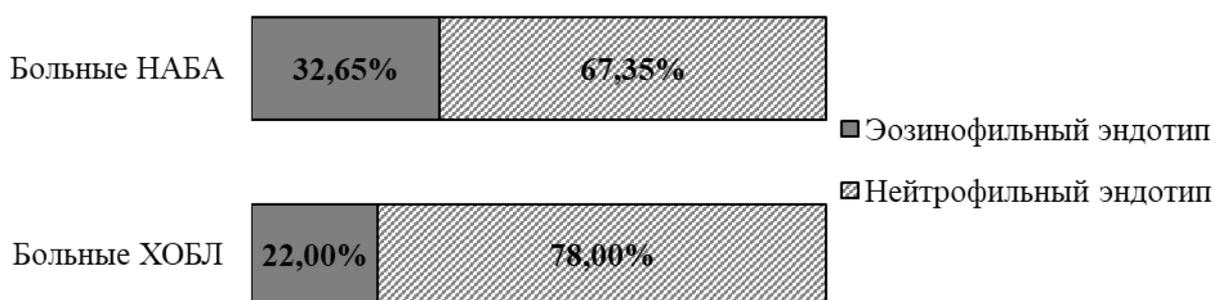


Рисунок 21 – Эндотипы неаллергической бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких с учетом типов воспаления дыхательных путей

Далее была изучена корреляционная взаимосвязь спонтанной и индуцированной продукции ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-6, ИЛ-8 с эндотипами НАБА и ХОБЛ (таблица 16, таблица 17).

Таблица - 16 Результаты корреляционного анализа по Спирмену продукции цитокинов с эндотипами хронической обструктивной болезни легких

Показатели	Эозинофильный эндотип ХОБЛ		Нейтрофильный эндотип ХОБЛ	
	r	p	r	p
ИЛ-4 (спонт.)	-0,018	0,928	0,218	0,2732

IL-4 (индуц.)	-0,351	0,072	0,474	0,012
IL-10 (спонт.)	0,033	0,868	-0,078	0,697
IL-10 (индуц.)	0,110	0,582	0,024	0,904
IL-6 (спонт.)	0,158	0,505	-0,124	0,601
IL-6 (индуц.)	-0,049	0,837	0,380	0,097
IL-8 (спонт.)	-0,260	0,189	0,169	0,398
IL-8 (индуц.)	0,041	0,835	0,253	0,202

Примечание:

спонт. – содержание цитокинов в супернатанте при спонтанной продукции клетками;  
индуц. – содержание цитокинов в супернатанте при ФГА-индуцированной продукции клетками.

Таблица - 17 Результаты корреляционного анализа по Спирмену продукции цитокинов с эндотипами неаллергической бронхиальной астмы

Показатели	Эозинофильный эндотип НАБА		Нейтрофильный эндотип НАБА	
	г	р	г	р
IL-4 (спонт.)	0,132	0,555	-0,221	0,322
IL-4 (индуц.)	-0,463	0,029	0,105	0,639
IL-10 (спонт.)	0,338	0,123	-0,012	0,951
IL-10 (индуц.)	-0,051	0,819	-0,314	0,153
IL-6 (спонт.)	0,015	0,938	-0,012	0,951
IL-6 (индуц.)	-0,069	0,730	0,144	0,471
IL-8 (спонт.)	0,150	0,502	-0,116	0,605
IL-8 (индуц.)	-0,226	0,310	0,405	0,061

Примечание:

спонт. – содержание цитокинов в супернатанте при спонтанной продукции клетками;  
индуц. – содержание цитокинов в супернатанте при ФГА-индуцированной продукции клетками.

Проведенный корреляционный анализ по Спирмену не выявил взаимосвязи спонтанной и индуцированной продукции изученных цитокинов (IL-4, IL-10, IL-6, IL-8) с выделенными эндотипами НАБА и ХОБЛ. Спонтанная и индуцированная продукция изученных цитокинов (IL-4, IL-10, IL-6, IL-8) лимфоцитами периферической крови не является значимой в формировании эндотипов. Данный вопрос требует дальнейшего более углубленного изучения.

На основании выделенных эндотипов НАБА и ХОБЛ проведена коррекция базисной терапии больным с данной патологией с учетом типов воспаления дыхательных путей.

На первом этапе включения пациентов в исследование, монотерапию ИГКС получали 14 (28,58%) больных НАБА, комбинированную терапию (ИГКС/ДДБА) - 35 (71,42%) больных НАБА. 8 (16,00%) больных ХОБЛ получали двойную бронхолитическую терапию (ДДАХП/ДДБА) и 42 (84,00%) больных ХОБЛ - ДДАХП/ДДБА/ИГКС.

После уточнения эндотипов НАБА и ХОБЛ проведен пересмотр терапии (таблица 18, таблица 19).

Таблица - 18 Базисная терапия больных неаллергической бронхиальной астмой с учетом типов воспаления дыхательных путей

Базисная терапия	До модели		После модели		$\chi^2$	p
	n	%	n	%		
Монотерапия ИГКС	14	28,58	5	10,20	5,29	0,03
ИГКС/ДДБА	35	71,42	44	89,80		

Таблица - 19 Базисная терапия больных хронической обструктивной болезнью легких с учетом типов воспаления дыхательных путей

Базисная терапия	До модели		После модели		$\chi^2$	p
	n	%	n	%		
ДДАХП/ДДБА/ИГКС	42	84,00	11	22,00	38,58	0,01
ДДАХП/ДДБА	8	16,00	39	78,00		

Монотерапия ИГКС назначена 5 (10,20%) больным эндотипом НАБА с эозинофильным типом воспалением. Комбинированная терапия ИГКС с ДДБА рекомендована 15 (30,62%) больным эндотипом НАБА с эозинофильным типом воспаления и 29 (59,18%) больным эндотипом НАБА с нейтрофильным типом воспаления. Больным эндотипом ХОБЛ с эозинофильным типом воспаления (n=11, 22,00%) к базисной терапии добавлены ИГКС, больным эндотипом ХОБЛ с нейтрофильным типом воспаления (n=39, 78,00%) рекомендована бронхолитическая терапия.

Назначение базисной терапии с учетом выделенных эндотипов НАБА и ХОБЛ на основании типов воспаления дыхательных путей оказал положительный клинический эффект. Улучшился контроль заболевания у больных НАБА, которые получали комбинированную терапию.

На первом этапе исследования большая часть больных ХОБЛ получали ИГКС в сочетании с бронхолитической терапией. После пересмотра терапии с учетом типов воспаления, количество больных ХОБЛ у которых в лечение были ИГКС значительно уменьшилась с 84,00% до 22,00%, увеличилось число пациентов на двойной бронхолитической терапии с 16,00% до 78,00% ( $\chi^2=38,58$ ,  $p=0,01$ ), что способствовало снижению риска возникновения побочных эффектов стероидов. Наши данные согласуются с Международными рекомендательными документами [121].

Таким образом, назначение базисной терапии при НАБА и ХОБЛ на основании типов воспаления дыхательных путей является наиболее рациональным.

### **Клинические примеры:**

#### **Пример 1.**

Больной Б., 49 лет, жалобы на одышку при незначительной физической нагрузке, приступообразный кашель в течение суток, ощущение нехватки воздуха, хрипы, свисты и чувство заложенности в грудной клетке,

Из анамнеза: длительный стаж курения, работает каменщиком. Часто переохлаждается. Обострения в межсезонье. Аллергологический анамнез не

отягощенный. Базисная терапия Гликопиррония бромид/ индакатерол 50/110 мкг 1 раз в сутки.  $\beta_2$ -агонистами короткого действия пользуется до 4-5 раз в сутки.

Объективно: состояние удовлетворительное, кожа нормальной окраски, лимфатические узлы не увеличены. Грудная клетка эмфизематозная. При перкуссии грудной клетки коробочный звук. При аускультации дыхание ослабленное везикулярное, выслушиваются единичные сухие хрипы. ЧДД 19 в 1 минуту. Тоны сердца ритмичные, ясные. ЧСС 78 в 1 минуту. АД 130/80 мм рт.ст. Живот мягкий, безболезненный.

ФВД: ФЖЕЛ 53%, ОФВ<sub>1</sub> 64%, ИТ 67%.

По шкале mMRC 2 балла.

Диагноз: Хроническая обструктивная болезнь легких среднетяжелое течение, выраженные клинические симптомы, низкий риск обострения (группа В).

Проведено обследование больному, в результате которого получены следующие показатели: количество эозинофилов в индуцированной мокроте - 12%, абсолютное значение нейтрофилов в крови –  $5,02 \times 10^9/л$ , уровень эозинофильного катионного протеина в крови – 25,50 нг/мл, уровень нейтрофильной эластазы в крови – 70 нг/мл.

$$y = 0,0206 \times 12 - 0,0583 \times 5,02 + 0,0205 \times 25,50 - 0,0011 \times 70 + 0,582 = 0,98$$

Выявлен эозинофильный тип воспаления дыхательных путей у больного с хронической обструктивной болезнью легких. Скорректирована терапия – к базисной терапии добавлены ИГКС (гликопиррония бромид/ индакатерол 50/110 + пульмикорт 200 мкг)

Пример 2.

Больная В., 57 лет, жалобы на приступообразный кашель с трудноотделяемой мокротой, затрудненное дыхание, постоянные хрипы, свисты и ощущение заложенности в грудной клетки, одышку при небыстрой ходьбе по ровной поверхности на расстоянии 100 метров.

Из анамнеза: длительный стаж курения, работала лаборанткой в фармацевтическом цехе. Хроническим бронхитом болеет много лет, обострения в

межсезонье. Аллергологический анамнез не отягощенный. Базисная терапия: формотерол/будесонид 12/400 мкг 2 раза в сутки. Приступы нехватки воздуха до 3 раз в сутки, купирует фенотеролом 100 мкг.

Объективно: состояние удовлетворительное, умеренный акроцианоз, лимфатические узлы не увеличены. Грудная клетка эмфизематозная. При перкуссии грудной клетки коробочный звук. При аускультации дыхание ослабленное везикулярное, разнотональные сухие хрипы выслушиваются по всем легочным полям., ЧД 22 в 1 минуту. Тоны сердца ритмичные, ясные. ЧСС 88 в 1 минуту. АД 130/80 мм рт.ст. Живот мягкий, безболезненный.

ФВД: ФЖЕЛ 51%, ОФВ<sub>1</sub> 45%, ИТ 60%.

По шкале mMRC 3 балла.

Диагноз: Хроническая обструктивная болезнь легких тяжелое течение, выраженные клинические симптомы, низкий риск обострения (группа В).

Проведено обследование больной, в результате которого получены следующие показатели: количество эозинофилов в индуцированной мокроте - 2%, абсолютное значение нейтрофилов в крови –  $8,34 \times 10^9/л$ , уровень эозинофильного катионного протеина в крови – 8,05 нг/мл, уровень нейтрофильной эластазы в крови – 190 нг/мл.

$$y = 0,0206 \times 2 - 0,0583 \times 8,34 + 0,0205 \times 8,05 - 0,0011 \times 190 + 0,582 = 0,04$$

Выявлен нейтрофильный тип воспаления дыхательных путей у больной с хронической обструктивной болезнью легких. Из лечения исключили ИГКС и назначена двойная бронхолитическая терапия ДДАХП/ДДБА (тиотропия бромид/олодатерол 2,5/2,5 мкг).

Пример 3.

Больная Н., 56 лет, ощущение нехватки воздуха при быстрой ходьбе, незначительной физической нагрузке, на периодические хрипы и свисты в грудной клетке, преимущественно в ночное время, кашель при вдыхании резких парфюмерных запахов, одышку при физической нагрузке.

Из анамнеза: работала бухгалтером. Отмечает приступы затрудненного дыхания при вдыхании сырого, влажного воздуха. Базисная терапия: Будесонид

200 мкг по 1 вдоху 2 раза в сутки. Приступы удушья возникают при физической нагрузке, купирует фенотеролом 100 мкг. Отмечает ухудшение состояния в период простудных заболеваний. Наследственность по бронхиальной астме неотягощена.

Объективно: состояние удовлетворительное, кожные покровы нормальной окраски, лимфатические узлы не увеличены. Грудная клетка гиперстеническая. При перкуссии грудной клетки легочный звук. При аускультации дыхание ослабленное везикулярное, единичные сухие хрипы в нижних отделах при форсированном выдохе. ЧД 19 в 1 минуту. Тоны сердца ритмичные, ясные. ЧСС 78 в 1 минуту. АД 130/80 мм рт.ст. Живот мягкий, безболезненный.

ФВД: ФЖЕЛ 72%, ОФВ<sub>1</sub> 68%, ИТ 80%.

Диагноз: Бронхиальная астма неаллергическая форма среднетяжелое течение.

Проведено обследование больной, в результате которого получены следующие показатели: количество эозинофилов в индуцированной мокроте - 1%, абсолютное значение нейтрофилов в крови –  $6,53 \times 10^9/л$ , уровень эозинофильного катионного протеина в крови – 8,07 нг/мл, уровень нейтрофильной эластазы в крови – 176 нг/мл.

$$y = 0,0206 \times 1 - 0,0583 \times 6,53 + 0,0205 \times 8,07 - 0,0011 \times 176 + 0,582 = 0,2$$

Выявлен нейтрофильный тип воспаления дыхательных путей у больной с бронхиальной астмой. Скоррегирована терапия: формотерол/будесонид 12/400 мкг 2 раза в сутки.

### **3.5 Алгоритм определения эндотипа неаллергической бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких и выбора базисной терапии**

На основании модели разработан алгоритм определения эндотипов НАБА и ХОБЛ с учетом значимых маркеров, что способствует дифференцированному подходу к диагностике НАБА и ХОБЛ с учетом типов воспаления дыхательных путей и оптимизации лечения больных с данной патологией (рисунок 22).

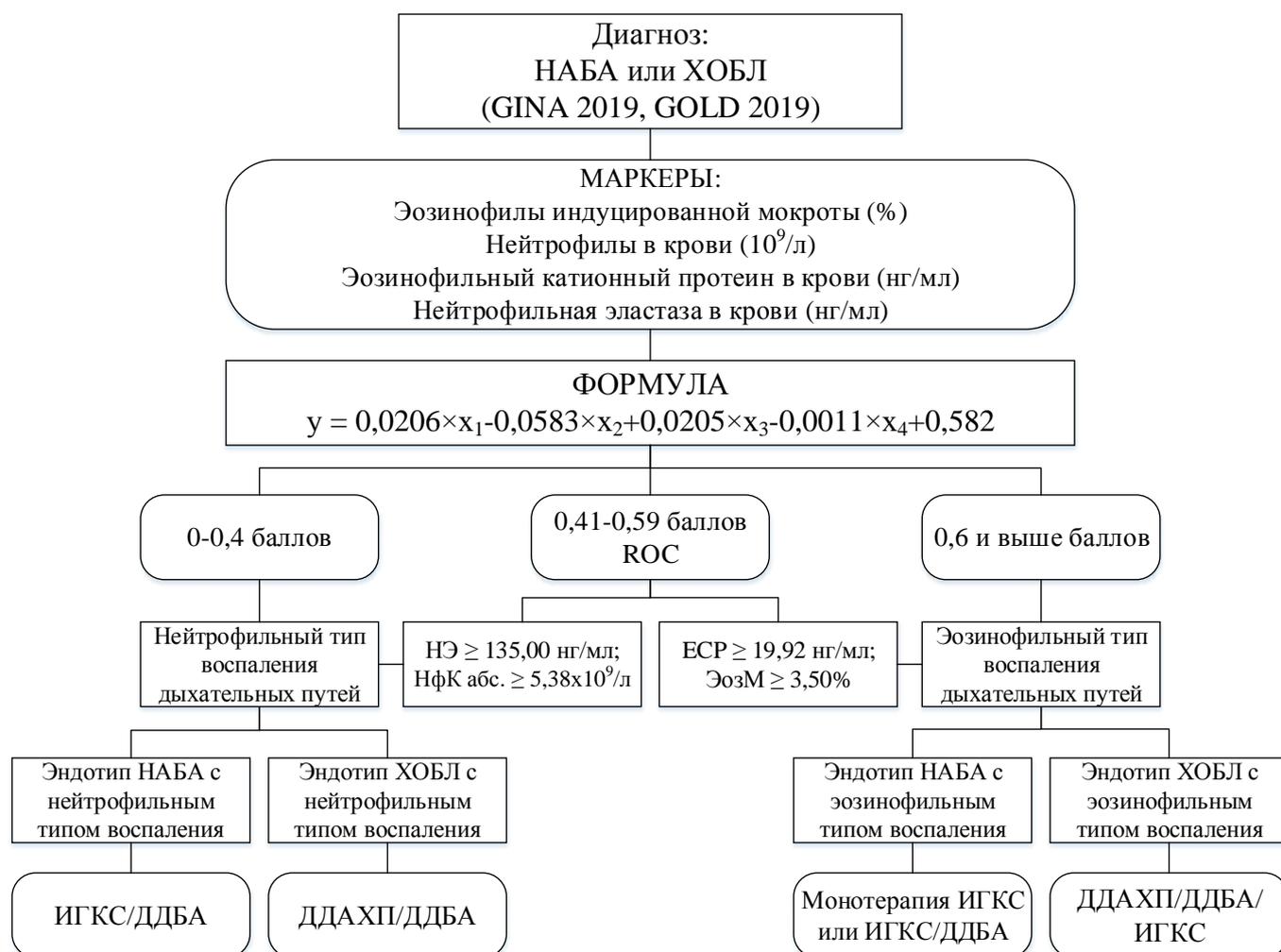


Рисунок 22 – Алгоритм определения эндотипа неаллергической бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких и выбора базисной терапии

Алгоритм включает: постановку диагноза БА (GINA 2019) и ХОБЛ (GOLD 2019), определение маркеров: ЭозМ (%), НфК абс. ( $10^9/л$ ), ЕСР в крови (нг/мл), НЭ в крови (нг/мл). Необходимо провести вычисления по формуле, при значении 0-0,4 баллов выявляется нейтрофильный тип воспаления дыхательных путей, при значении 0,6 и выше баллов - эозинофильный тип воспаления дыхательных путей. Если значение попадает в интервал 0,41-0,59, необходимо ориентироваться на показатели ЕСР  $\geq 19,92$  нг/мл, НЭ  $\geq 135,00$  нг/мл, ЭозМ  $\geq 3,50\%$ , НфК абс.  $\geq 5,38 \times 10^9/л$ .

У больных эндотипом НАБА с нейтрофильным типом воспаления показана комбинированная терапия ИГКС с ДДБА, при эндотипе НАБА с эозинофильным типом воспаления - монотерапия ИГКС или ИГКС в сочетании с ДДБА. При

выявлении у больных эндотипа ХОБЛ с нейтрофильным типом воспаления рекомендована бронхолитическая терапия (ДДАХП/ДДБА), при эндотипе ХОБЛ с эозинофильным типом воспаления показано лечение ИГКС в дополнение к бронхолитической терапии.

Использование алгоритма в практической деятельности врача, поможет обоснованно подойти к дифференциальной диагностике эндотипов НАБА и ХОБЛ, что позволит целесообразно назначать ИГКС у больных ХОБЛ и выбору объема базисной терапии у больных НАБА.

## ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

БА и ХОБЛ являются гетерогенными заболеваниями, в основе патогенеза которых лежит воспаление дыхательных путей. Иммуный ответ обуславливает тип воспаления респираторного тракта и, соответственно, определяет разный ответ на терапию. Тип воспаления дыхательных путей у больных БА и ХОБЛ может быть нейтрофильным и эозинофильным в зависимости от преобладающего клеточного компонента [54, 145]. В настоящее время выделяют различные фенотипы как БА, так и ХОБЛ на основании клинической картины, ответа на проводимую терапию и клеточного состава дыхательных путей [2, 5, 147, 159, 189].

В патогенезе воспаления респираторного тракта при БА и ХОБЛ важная роль принадлежит иммунокомпетентным клеткам и цитокинам. Иммунопатогенез воспаления может протекать по Th2 и не-Th2 иммунному ответу. Цитокины определяют тип иммунного реагирования [186].

Часть больных БА плохо поддается лечению ИГКС и имеет тяжелое течение заболевания [130]. У этой когорты больных астмой в литературе описывается нейтрофильное воспаление дыхательных путей. Авторы связывают такое течение с преобладанием нейтрофильного воспаления в респираторном тракте [109, 124, 173].

В настоящее время ведутся дискуссии о назначении ИГКС у больных ХОБЛ. По данным литературы описывается, что некоторые больные ХОБЛ имеют повышенное количество эозинофилов в крови и предполагается, что воспаление дыхательных путей будет характеризоваться эозинофильным типом [165, 181]. В связи с этим, предпринимаются попытки для выделения биомаркеров эозинофильного фенотипа ХОБЛ. В настоящее время показанием для назначения ИГКС при ХОБЛ является сочетание ХОБЛ с БА, эозинофилия крови (содержание эозинофилов в крови вне обострения более 3%) и частые обострения заболевания (2 и более среднетяжелых обострений в течение 1 года или хотя бы 1 тяжелое обострение, потребовавшее госпитализации) [121]. Однако показатель эозинофилов в крови достаточно лабильный и его уровень зависит от многих

факторов, поэтому вопрос остается дискуссионным. Длительная терапия ИГКС больных ХОБЛ может привести к развитию нежелательных явлений (пневмония, кандидоз и другие) [102, 108, 163]. Поэтому назначение ИГКС при ХОБЛ должно быть обоснованно.

Таким образом, актуальным вопросом является выделение критериев типов воспаления дыхательных путей при БА и ХОБЛ, которые позволят в дальнейшем оптимизировать терапию больным БА и обоснованно назначать ИГКС больным ХОБЛ.

Проведя анализ литературы, в настоящей работе поставлена цель определить критерии эозинофильного и нейтрофильного типов воспаления дыхательных путей, разработать алгоритм диагностики типов воспаления дыхательных путей у больных НАБА и ХОБЛ для оптимизации терапии.

В исследование участвовали 96 больных с диагнозом БА, которые разделены на две группы: больные НАБА (n=49) и больные АБА (n=47), 50 больных с диагнозом ХОБЛ и 17 здоровых лиц.

Средний возраст больных НАБА составил 56 лет, средняя длительность течения заболевания - 10 лет. Частота обострения заболевания у больных наблюдалась 2,00 раза в год, были связаны с инфекционным фактором. Показатели спирометрии у больных НАБА: 2,07 л (73,00%), ОФВ<sub>1</sub> 1,40 л (60,00%), ИТ 84,00%. Среднетяжелое течение заболевания наблюдалось у 18 (36,74%) больных НАБА, тяжелое течение - 31 (63,26%). Контролируемое течение наблюдалось у 11 (22,44%) больных НАБА, частично контролируемое течение - 13 (26,54%), неконтролируемое - 25 (51,02%).

Средний возраст больных АБА составил 53 года, средняя длительность течения заболевания - 20 лет. У больных АБА частота обострения заболевания наблюдалась 0,03 раза в год. Спирометрические показатели у больных АБА: ФЖЕЛ 2,96 л (83,50%), ОФВ<sub>1</sub> 3,22 л (84,00%), ИТ 86,50%. У 30 (63,83%) лиц с АБА было среднетяжелое течение заболевания, у 17 (36,17%) - тяжелое течение. У больных АБА контролируемое течение заболевания было у 19 (40,42%) больных, частично контролируемое - 16 (34,04%), неконтролируемое - 12

(25,54%). Поскольку АБА являлась группой сравнения, в исследование были включены пациенты с подтвержденным аллергоанамнезом и уровнем эозинофилов в крови и/или в мокроте выше 3%.

Все больные БА получали лечение в соответствии со ступенчатой терапией, рекомендованной «GINA 2014» в эквивалентных дозах ИГКС. Выбор доз ИГКС соответствовал степени тяжести заболевания. В группе больных НАБА средние дозы ИГКС получали 12 (24,49%), высокие дозы - 37 (75,51%). В группе больных АБА получали средние дозы ИГКС 33 (70,21%) больных, высокие дозы - 14 (29,78%). Монотерапию ИГКС получали 14 (28,57%) больных НАБА, комбинированную терапию (ИГКС/ДДБА) - 35 человек (71,43%). Больным АБА монотерапия ИГКС была назначена 28 (59,58%), комбинированная терапия (ИГКС/ДДБА) - 19 (40,42%).

Больные НАБА характеризовались более тяжелым течением заболевания, частыми обострениями, низкими показателями ФВД, получали высокие дозы ИГКС в сравнении с больными АБА.

У больных ХОБЛ длительность течения заболевания в среднем составила 9 лет. Средний возраст обследованных составил 57 лет. Частота обострения заболевания наблюдалась 2,03 раза в год. У больных ХОБЛ данные ФВД были: ФЖЕЛ 1,70 л (48,00%), ОФВ<sub>1</sub> 1,03 л (37,50%), ИТ 66,00%. Со среднетяжелым течением ХОБЛ было 20 (40,00%) больных, с тяжелым - 30 (60,00%) больных.

Все больные ХОБЛ в соответствии «GOLD 2014» получали базисную терапию. Бронхолитическую терапию (ДДАХП/ДДБА) получали 8 (16,00%) человек, лечение ИГКС в сочетании с ДДАХП/ДДБА получали 42 пациента (84,00%).

В связи с поставленными задачами изучена спонтанная и индуцированная продукция IL-4, IL-10, IL-6, IL-8 в сыворотке крови у пациентов с БА и ХОБЛ. Индуцированная продукция цитокинов показывает резервные возможности иммунокомпетентных клеток в ответ на действие патогенного фактора.

Индуцированная продукция IL-4 достоверно выше у больных НАБА (13,40 пг/мл) и АБА (17,30 пг/мл) по сравнению с больными ХОБЛ (9,60 пг/мл) и контрольной группой (8,90 пг/мл) ( $p < 0,05$ ).

Аналогичный характер изменений отмечался при исследовании спонтанной продукции IL-10: у больных НАБА (8,95 пг/мл) и у больных АБА (17,50 пг/мл) в сравнении с больными ХОБЛ (3,01 пг/мл) и здоровыми лицами (3,19 пг/мл) ( $p < 0,05$ ). При сравнении полученных результатов индуцированной продукции IL-10, ее уровень был достоверно высокий у больных НАБА и АБА по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,05$ ). Отмечалось статистическое значимое различие по уровню индуцированной продукции IL-10 между больными ХОБЛ (129,03 пг/мл) и АБА (161,80 пг/мл) ( $p < 0,05$ ).

Полученные результаты свидетельствуют, что в основе патогенеза АБА лежит Th2 тип иммунного ответа. АБА является фенотипом астмы с аллергическим типом воспаления, что подтверждают данные литературы [83]. Повышение IL-4 при НАБА можно объяснить, активацией воспалительных процессов через неспецифические факторы (эотоксин) [183]. IL-10, являясь регулятором иммунного ответа, принимает участие в воспалении дыхательных путей, как у больных АБА, так и у больных НАБА.

Выявлен достоверно высокий уровень спонтанной и индуцированной продукции IL-6 у больных НАБА (399,00 пг/мл и 9918,00 пг/мл, соответственно) и у больных ХОБЛ (293,30 пг/мл и 9886,00 пг/мл, соответственно) в сравнении с больными АБА (94,40 пг/мл и 9860,00 пг/мл, соответственно) и контрольной группой (54,10 пг/мл и 9844,00 пг/мл, соответственно) ( $p < 0,05$ ).

Статистически значимо был повышен уровень IL-8, как спонтанной, так и индуцированной продукции у больных НАБА и ХОБЛ в сравнении с больными АБА и здоровыми лицами. При сравнении групп больных НАБА и ХОБЛ достоверно выявлена разница: спонтанная и индуцированная продукция IL-6 была выше у больных НАБА, индуцированная продукция IL-8 выше у больных ХОБЛ ( $p < 0,05$ ).

При НАБА и ХОБЛ в патогенезе лежит не-Th2 тип иммунного реагирования. По преобладающей продукции IL-8 можно предполагать о нейтрофильном типе воспаления дыхательных путей.

Известна роль IL-6 в ремоделировании бронхиального дерева, что может приводит к более тяжелому и неконтролируемому течению астмы и резистентности лечения ИГКС, это более характерно для клинического течения НАБА. IL-8 являясь продуктом нейтрофилов, способствуют поддержанию нейтрофильного воспаления респираторного тракта, что более выражено и значимо для больных ХОБЛ.

Таким образом, изученные цитокины играют важную роль в патогенезе БА и ХОБЛ. Иммунопатогенез АБА протекает по Th2 иммунному ответу. При НАБА иммунный ответ может реализоваться двумя путями (Th2 и не-Th2). В патогенезе ХОБЛ преобладает не-Th2 тип иммунного реагирования. Тип воспаления дыхательных путей определяется преобладающей продукцией определенных цитокинов.

По данным литературы принято тип воспаления определять по количеству эозинофилов в крови и мокроте [155, 177, 179]. С этой целью был изучен клеточный состав ИМ и крови.

При исследовании ИМ выявлен достоверно высокий уровень нейтрофилов в группах больных НАБА (73,00% от всех клеток в образце) и больных ХОБЛ (78,00% от всех клеток в образце) по сравнению с группами АБА (62,00% от всех клеток в образце) и контрольной (61,00% от всех клеток в образце) ( $p < 0,05$ ). Статистически значимое повышение количества эозинофилов в ИМ отмечалось у больных АБА (10,00% от всех клеток в образце) и НАБА (1,03% от всех клеток в образце) в сравнении с контрольной группой и больными ХОБЛ ( $p < 0,05$ ). Высокий уровень эозинофилов в ИМ (более 3%) выявлен только у 12 (24,48%) больных НАБА и у 5 (10,00%) больных ХОБЛ.

При изучении клеточного состава крови наблюдался достоверно повышенный уровень нейтрофилов, как в процентном отношении, так и в абсолютных значениях, у больных НАБА (67,00% и  $5,30 \times 10^9$ /л, соответственно) и у больных ХОБЛ (72,00% и  $7,30 \times 10^9$ /л, соответственно) в сравнении с

контрольной группой и больными АБА ( $p < 0,05$ ). Количество эозинофилов, как в процентном отношении, так и в абсолютных значениях, статистически значимо было повышено у больных АБА по сравнению с контрольной группой и больными НАБА ( $p < 0,05$ ). Высокий уровень эозинофилов в крови (более 3%) отмечался у 10 (20,40%) больных НАБА и у 8 (16,00%) больных ХОБЛ.

У больных АБА наблюдался повышенный уровень эозинофилов как в ИМ так и в крови. У больных НАБА и ХОБЛ преобладали нейтрофилы в ИМ и крови. Не у всех больных НАБА и ХОБЛ одновременно наблюдалось совпадение повышенного уровня эозинофилов в ИМ и в крови. С этой целью были изучены дополнительные маркеры воспаления, такие как ЕСР и НЭ.

Высокие значения ЕСР определялись у 76,59% ( $n=36$ ) больных АБА, 28,57% ( $n=14$ ) больных НАБА и у 12,00% ( $n=6$ ) больных ХОБЛ. Значения ЕСР достоверно отличались у больных АБА (21,30 нг/мл) в сравнении с больными НАБА (13,75 нг/мл) и больными ХОБЛ (10,41 нг/мл), а также с контрольной группой (9,25 нг/мл) ( $p < 0,05$ ).

Высокий уровень НЭ выявлен у 69,38% ( $n=34$ ) больных НАБА и у 82,00% ( $n=41$ ) больных ХОБЛ. Достоверно высокий уровень НЭ был у больных НАБА (150,00 нг/мл) и у больных ХОБЛ (175,00 нг/мл), по сравнению с больными АБА (70,00 нг/мл) и контрольной группой (80,00 нг/мл) ( $p < 0,05$ ). При сравнении групп больных НАБА и ХОБЛ, уровень НЭ статистически выше был у больных ХОБЛ ( $p < 0,05$ ). ЕСР значительно повышен у больных АБА, являясь продуктом эозинофилов, рассматривается его важная роль при эозинофильном типе воспаления дыхательных путей. Высокий уровень НЭ у больных НАБА и ХОБЛ подтверждает ее роль при нейтрофильном типе воспаления.

Таким образом, ЕСР и НЭ играют значимую роль в патогенезе типов воспаления дыхательных путей при БА и ХОБЛ. Тип воспаления дыхательных путей имеет общие физиологические закономерности и не имеет специфических признаков по нозологии. Тип воспаления дыхательных путей может отличаться интенсивностью процесса, а качественная характеристика типа воспаления схожа у больных, как БА, так и ХОБЛ.

Для оценки значимости ECP и НЭ как специфических маркеров воспаления и их сравнения, определения пороговых значений этих параметров было выделено две группы пациентов. Группа А – пациенты с эозинофильным типом воспаления дыхательных путей и группа Б – пациенты с неэозинофильным (нейтрофильным) типом. В группу А (n=65, 44,52%) вошли больные с АБА (n=47), НАБА (n=10) и ХОБЛ (n=8), у которых был повышенный уровень эозинофилов в крови (более 3%) в соответствии с рекомендательными документами (GINA, 2014; GOLD, 2014). Группу Б (n=81, 55,48%) составили больные НАБА (n=39) и ХОБЛ (n=42), уровень эозинофилов в крови которых не превышал 3%. При сравнении групп А и Б между собой и контрольной, отмечалось статистически значимое различие, как по уровню ECP, так и по уровню НЭ в крови ( $p < 0,05$ ).

У пациентов в группе А уровень ECP составил 22,00 нг/мл, что статистически значимо выше в сравнении с больными в группе Б, у которых данный показатель составил 9,96 нг/мл, и контрольной группой – 9,25 нг/мл ( $p < 0,05$ ). Уровень НЭ у пациентов в группе Б был достоверно выше в сравнении с больными в группе А и контрольной группой ( $p < 0,05$ ). Таким образом, ECP и НЭ могут быть рассмотрены в качестве специфических маркеров типов воспаления.

В работе применен многофакторный анализ, с помощью которого определили значимые маркеры и их взаимосвязь с типом воспаления дыхательных путей у больных БА и ХОБЛ. Многофакторный анализ параметров был проведен между больными группы А (n=65) и больными группы Б (n=81). Для нейтрофильного типа воспаления дыхательных путей критерий принадлежности обозначили как 0 баллов, для эозинофильного типа воспаления дыхательных путей – 1 балл. По результатам многофакторного анализа наиболее значимыми показателями оказались абсолютное значение нейтрофилов в крови (НфК абс.), количество эозинофилов в ИМ в процентном отношении (ЭозМ), уровень ECP и НЭ в крови. Разработана модель, дающая возможность дифференцировать воспаление дыхательных путей на нейтрофильный и эозинофильный тип.

Обозначили тип воспаления дыхательных путей как  $y$ ,  $x_1$  – количество эозинофилов в ИМ в процентном отношении (%),  $x_2$  – абсолютное значение

нейтрофилов в крови ( $10^9/\text{л}$ ),  $x_3$  - количество ECP в крови (нг/мл),  $x_4$  – количество НЭ в крови (нг/мл), тогда модель для диагностики типов воспаления дыхательных путей при БА и ХОБЛ представлена в виде:

$$y = 0,0206 \times x_1 - 0,0583 \times x_2 + 0,0205 \times x_3 - 0,0011 \times x_4 + 0,582$$

При значении  $y$  в диапазоне 0-0,4 баллов предполагается нейтрофильный тип воспаления дыхательных путей у больных БА и ХОБЛ; при  $y$ , равном 0,6 баллов и выше, – эозинофильный тип воспаления дыхательных путей у больных БА и ХОБЛ.

При промежуточном значении  $y$  от 0,41 до 0,59 баллов необходимо использовать пороговые значения параметров ECP, НЭ, ЭозМ и НфК абс., полученные в результате проведенного ROC-анализа. Уровень ECP, равный 19,92 нг/мл и выше (чувствительность 90,00% и специфичность 89,70%), и ЭозМ, равный 3,50% и выше (чувствительность 82,90%, специфичность 82,90%), можно рассматривать в качестве дополнительных критериев эозинофильного воспаления дыхательных путей. В то же время уровень НЭ, равный 135,00 нг/мл и выше (чувствительность 85,30% и специфичность 77,10%), и НфК абс., равный  $5,38 \times 10^9/\text{л}$  и выше (чувствительность 72,20%, специфичность 73,90%), являются критериями нейтрофильного воспаления дыхательных путей.

С помощью разработанной модели выделены эндотипы НАБА и ХОБЛ с учетом типов воспаления дыхательных путей. Выявлено, что эндотип НАБА с эозинофильным типом воспаления встречается у 32,65% больных, эндотип НАБА с нейтрофильным типом воспаления – у 67,35%, эндотип ХОБЛ с эозинофильным типом воспаления – у 22,00% больных, эндотип ХОБЛ с нейтрофильным типом – у 78,00%.

Проведенный корреляционный анализ по Спирмену не выявил взаимосвязи спонтанной и индуцированной продукции изученных цитокинов (IL-4, IL-10, IL-6, IL-8) с выделенными эндотипами НАБА и ХОБЛ. Спонтанная и индуцированная продукция изученных цитокинов (IL-4, IL-10, IL-6, IL-8) лимфоцитами периферической крови не является значимой в формировании эндотипов. Данный вопрос требует дальнейшего более углубленного изучения.

В клинической практике встречаются пациенты БА, которые резистентны к высоким дозам ИГКС. Добавление бронхолитической терапии к ИГКС позволяет улучшить контроль заболевания. Выбор и объем терапии происходит эмпирическим путем, без учета типа воспаления дыхательных путей. С учетом типа воспаления можно прогнозировать эффективность терапии у больных БА и определить выбор базисной терапии в пользу или только монотерапии ИГКС или комбинированной терапии.

До настоящего времени не существует единого мнения и остается дискуссионным вопрос о назначении ИГКС при ХОБЛ. Современная концепция терапии предполагает назначение больным ХОБЛ бронхолитических препаратов (ДДБА, ДДАХП) или их комбинацию. Терапия ИГКС у больных ХОБЛ ограничена, из-за высокого риска развития побочных эффектов (пневмония, остеопороз, сахарный диабет и другие). ИГКС рекомендуется назначать только в дополнение к проводимой бронхолитической терапии у больных ХОБЛ с БА в анамнезе, с эозинофилией крови (содержание эозинофилов в крови вне обострения более 3%) и частыми обострениями заболевания (2 и более среднетяжелых обострений в течение 1 года или хотя бы 1 тяжелое обострение, потребовавшее госпитализации) (GOLD, 2019).

На основании выделенных эндотипов НАБА и ХОБЛ проведена коррекция терапии больным с данной патологией. Монотерапия ИГКС назначена 5 (10,20%) больным эндотипом НАБА с эозинофильным типом воспаления. Комбинированная терапия ИГКС с ДДБА рекомендована 15 (30,62%) больным эндотипом НАБА с эозинофильным типом воспаления и 29 (59,18%) больным эндотипом НАБА с нейтрофильным типом воспаления. Увеличилась доля пациентов с НАБА, получающих комбинированную терапию ( $\chi^2=5,29$ ,  $p=0,03$ ). Больным эндотипом ХОБЛ с эозинофильным типом воспаления ( $n=11$ , 22,00%) к базисной терапии добавлены ИГКС, больным эндотипом ХОБЛ с нейтрофильным типом воспаления ( $n=39$ , 78,00%) рекомендована бронхолитическая терапия. Уменьшилось число больных ХОБЛ, получавших ИГКС – с 84,00% до 22,00% ( $\chi^2=38,58$ ,  $p=0,01$ ), что более оптимально для снижения риска возникновения побочных эффектов стероидов.

На основании модели разработан алгоритм определения эндотипов НАБА и ХОБЛ с учетом значимых маркеров, что способствует дифференцированному подходу к диагностике НАБА и ХОБЛ с учетом типов воспаления дыхательных путей и оптимизации лечения больных с данной патологией. У больных эндотипом НАБА с нейтрофильным типом воспаления показана комбинированная терапия ИГКС с ДДБА, при эндотипе НАБА с эозинофильным типом воспаления – монотерапия ИГКС или ИГКС в сочетании с ДДБА. При выявлении у больных эндотипа ХОБЛ с нейтрофильным типом воспаления рекомендована бронхолитическая терапия (ДДАХП/ДДБА), при эндотипе ХОБЛ с эозинофильным типом воспаления показано лечение ИГКС в дополнение к бронхолитической терапии. Предложенный алгоритм поможет практическому врачу в выборе обоснованной терапии больным с НАБА и ХОБЛ.

Проведенное исследование позволило выделить значимые маркеры типов воспаления и определить соответствующие критерии, разработать модель и алгоритм диагностики эндотипов НАБА и ХОБЛ и оптимизировать базисную терапию у больных с данной патологией.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

В проведенной работе были изучены и выделены маркеры типов воспаления дыхательных путей у больных БА и ХОБЛ. Показано участие цитокинов в иммунопатогенезе воспаления респираторного тракта и проведен сравнительный анализ их при НАБА и ХОБЛ. Разработана модель диагностики типов воспаления дыхательных путей у больных БА и ХОБЛ. Выделены два эндотипа НАБА и ХОБЛ с учетом типов воспаления респираторного тракта. Клиническое течение и патогенез БА и ХОБЛ многообразны, в связи с этим, подход к терапии больных с данной патологией должен быть индивидуальным. Для диагностики и улучшения эффективности терапии больных БА и ХОБЛ, разработан алгоритм диагностики типов воспаления дыхательных путей у больных с данной патологией.

В результате проведенного исследования, следует заключить, что БА и ХОБЛ, являясь гетерогенными заболеваниями, имеют различные эндотипы, основанные на типе воспаления дыхательных путей. Верификация типа воспаления респираторного тракта при БА и ХОБЛ необходима для оптимизации лечебных мероприятий. В связи с этим, терапия больных с данной патологией должна быть дифференцирована, и лечебная тактика меняться в зависимости от типа воспаления дыхательных путей. Обоснованная терапия ИГКС у больных ХОБЛ позволит избежать и минимизировать побочное действие препаратов.

## ВЫВОДЫ

1. Спонтанная и индуцированная продукция цитокинов имеет большое значение в патогенезе бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких. У больных аллергической бронхиальной астмой достоверно повышена индуцированная продукция IL-4 и спонтанная и индуцированная продукция IL-10. Для больных неаллергической бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких достоверно выявлено повышение спонтанной и индуцированной продукции IL-6 и IL-8.

2. Эозинофильный катионный протеин является специфичным маркером эозинофильного типа воспаления и повышен у 76,59% больных аллергической бронхиальной астмой, у 28,57% больных неаллергической бронхиальной астмой, у 12,00% больных хронической обструктивной болезнью легких. Нейтрофильная эластаза является специфичным маркером нейтрофильного воспаления, ее высокий уровень выявлен у 69,38% больных неаллергической бронхиальной астмой и у 82,00% больных хронической обструктивной болезнью легких.

3. Критериями эозинофильного типа воспаления дыхательных путей являются: количество эозинофилов в индуцированной мокроте (3,50% и выше) и уровень эозинофильного катионного протеина в крови (19,92 нг/мл и выше). Критериями нейтрофильного типа воспаления дыхательных путей являются: уровень абсолютного значения нейтрофилов в крови ( $5,38 \times 10^9$ /л и выше) и уровень нейтрофильной эластазы в крови (135,00 нг/мл и выше).

4. Разработан алгоритм диагностики типов воспаления у больных бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких с учетом установленных наиболее значимых маркеров. Коэффициент от 0 до 0,4 баллов предполагает нейтрофильный тип воспаления дыхательных путей; 0,6 баллов и выше – эозинофильный тип воспаления дыхательных путей.

5. Выделены два эндотипа неаллергической формы бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких. Эндотип с эозинофильным типом воспаления установлен у 32,65% больных неаллергической бронхиальной астмой

и у 22,00% больных хронической обструктивной болезнью легких. Эндотип с нейтрофильным типом воспаления выявлен у 67,35% больных неаллергической бронхиальной астмой и у 78,00% больных хронической обструктивной болезнью легких. Корреляции повышенной или пониженной продукции изученных цитокинов с тем или иным эндотипом неаллергической бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких выявлено не было.

6. На основании разработанного алгоритма диагностики типов воспаления дыхательных путей обоснованы дифференцированные подходы к базисной терапии больных неаллергической бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких. При эндотипе неаллергической бронхиальной астмы с эозинофильным типом воспаления показаны ингаляционные глюкокортикостероиды в виде монотерапии или в сочетании с бронхолитиками, при эндотипе неаллергической бронхиальной астмы с нейтрофильным типом воспаления – комбинированная терапия ингаляционными глюкокортикостероидами в сочетании с бронхолитическими препаратами. При эндотипе хронической обструктивной болезни легких с эозинофильным типом воспаления обосновано назначение ингаляционных глюкокортикостероидов в дополнение к базисной терапии, при эндотипе хронической обструктивной болезни легких с нейтрофильным типом воспаления – бронхолитической терапии.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Аллергологам-иммунологам, пульмонологам, врачам общей практики, терапевтам необходимо пользоваться алгоритмом диагностики эндотипов неаллергической бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких для своевременного определения типа воспаления и оптимизации базисной терапии.

2. В стандарт обследования больных бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких следует включать исследование эозинофильного катионного протеина и нейтрофильной эластазы в крови для определения типов воспаления дыхательных путей. Уровень эозинофильного катионного протеина 19,92 нг/мл и выше в крови позволяет диагностировать эозинофильный тип воспаления, уровень нейтрофильной эластазы 135,00 нг/мл и выше – нейтрофильный тип воспаления. Диагностическая ценность эозинофильного катионного протеина и нейтрофильной эластазы как маркеров определяется высокой чувствительностью и специфичностью (90,00% и 89,70% для эозинофильного катионного протеина; 85,30% и 77,10% для нейтрофильной эластазы).

## **ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ**

Изучение типов воспаления дыхательных путей у больных БА и ХОБЛ имеет перспективу дальнейшего развития. Следует продолжить изучение типов воспаления в контексте сочетания БА и хронического синусита, поскольку имеется анатомо-физиологическая связь верхних и нижних дыхательных путей, следовательно, тип воспаления дыхательных путей может коррелировать с типом воспаления слизистой оболочки полости носа. Актуально изучение типов воспаления у больных с астмой и полипозом носа.

Выраженная продукция определенных цитокинов является обоснованием для таргетной терапии при БА и ХОБЛ. Данные направления являются актуальными в современной респираторной медицине. Не изучена также роль генетических предикторов в формировании типов воспаления.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

ААТ -  $\alpha_1$  – антитрипсин

АБА - аллергическая форма бронхиальной астмы

БА - бронхиальная астма

ГБОУ ДПО ПИУВ Минздрава России – Государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования Пензенский институт усовершенствования врачей Министерства здравоохранения Российской Федерации

ГКС - глюкокортикостероиды

ДАИ - дозированный аэрозольный ингалятор

ДДАХП - длительно действующие антихолинергические препараты

ДДБА - длительно действующие  $\beta_2$  – агонисты

ДПИ - дозированный порошковый ингалятор

ЖБАЛ - жидкость бронхоальвеолярного лаважа

ИГКС - ингаляционные глюкокортикостероиды

ИМ - индуцированная мокрота

ИТ - индекс Тиффно

ИФА - иммуноферментный анализ

НАБА - неаллергическая форма бронхиальной астмы

НфК% - количество нейтрофилов крови в процентном отношении

НфК абс - абсолютное значение нейтрофилов в крови

НфМ - количество нейтрофилов в индуцированной мокроте

НЭ - нейтрофильная эластаза

ОФВ<sub>1</sub> - объем форсированного выдоха в 1 секунду

ПИУВ - филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России - Пензенский институт усовершенствования врачей - филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации

ФВД - функция внешнего дыхания

ФГА - фитогемагглютинин

ФЖЕЛ - форсированная жизненная емкость легких

ХОБЛ - хроническая обструктивная болезнь легких

ЦНИЛ - Центральная научная лаборатория

ЭозК% - количество эозинофилов в крови в процентном отношении

ЭозК абс. - абсолютное значение эозинофилов в крови

ЭозМ - количество эозинофилов в индуцированной мокроте

ATS - Американское Торакальное Общество

CD - кластер дифференцировки Т-лимфоцитов

ЕСР - эозинофильный катионный протеин

EDN - эозинофильный нейротоксин

ЕРО - эозинофильная пероксидаза

GINA - Глобальная Стратегия лечения и профилактики бронхиальной астмы

GOLD - Глобальная Стратегия лечения и профилактики хронической обструктивной болезни легких

IgE - иммуноглобулин Е

IL - интерлейкин

MBP —основной белок

mMRC - Модифицированная шкала оценки одышки

Th2 - Т – лимфоциты хелперы 2 типа

TNF- $\alpha$  - фактор некроза опухоли альфа

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдурахманова, И.С. Характер экспрессии провоспалительных цитокинов у больных хронической обструктивной болезнью легких / И.С. Абдурахманова, В.И. Никуличева, Д.Р. Вагапова, О.А. Еникеев // Саратовский научно-медицинский журнал. - 2010. – Т. 6, № 2. - С. 314-317.
2. Авдеев, С.Н. Распространенность, заболеваемость, фенотипы и другие характеристики тяжелой бронхиальной астмы в Российской Федерации / С.Н. Авдеев, Н.М. Ненашева, К.В. Жуденко, В.А. Петраковская, Г.В. Изюмова // Пульмонология. - 2018. - Т. 28, №3. - С. 341-358.
3. Аверьянов, А.В. Нейтрофильная эластаза и болезни органов дыхания / А.В. Аверьянов, А.Э. Поливанова // Пульмонология. - 2006. - № 5. - С. 74-79.
4. Аверьянов, А.В. Роль нейтрофильной эластазы в патогенезе хронической обструктивной болезни легких / А.В. Аверьянов // Цитокины и воспаление. - 2007. - Т. 6, № 4. - С. 3–8.
5. Аверьянов, А.В. Фенотипы больных хронической обструктивной болезнью легких / А.В. Аверьянов, А.Г. Чучалин, А.Э. Поливанова и др. // Терапевтический архив. - 2009. – Т. 81, № 3. - С. 9-15.
6. Адо, А.Д. Частная аллергология / А.Д. Адо - М.: Медицина, 1976. - 510 с.
7. Айсанов, З.Р. Фенотип хронической обструктивной болезни легких с частыми обострениями и современная противовоспалительная терапия / З.Р. Айсанов, Е.Н. Калманова, О.Ю. Стулова // Пульмонология. - 2013. - №1. - С. 68-76.
8. Ащина, Л. А. Оценка цитокин-продуцирующей способности клеток иммунной системы у больных с аутоиммунной формой хронической крапивницы: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 14.03.09, 14.03.10 / Ащина Людмила Андреевна. - Пенза, 2014. - 26 с.
9. Балаболкин, И.И. Аллергическая бронхиальная астма у детей. Особенности развития и современные подходы к терапии / И.И. Балаболкин, И.Е. Смирнов // Российский педиатрический журнал. - 2018. - Т. 21. № 1. - С. 38-45.

10. Белевский, А.С. Хроническая обструктивная болезнь легких: проблемы сегодняшнего дня / А.С. Белевский, А.А. Визель, С.К. Зырянов, Г.Л. Игнатова, А.С. Колбин, И.В. Лещенко, О.Н. Титова, М.Ю. Фролов // Практическая пульмонология. - 2015. - № 3. - С.18-23.

11. Бережная, Н.М. Цитокиновая регуляция при патологии: стремительное развитие и неизбежные вопросы / Н.М. Бережная // Цитокины и воспаление. - 2007. – Т. 6, №2. - С. 26-34.

12. Блинова, Т.В. Цитокиновый профиль сыворотки крови при хронической обструктивной болезни легких профессиональной этиологии в стабильной фазе болезни и его ассоциация с другими маркерами воспалительного процесса / Т.В. Блинова, Л.А. Страхова, Н.А. Лавренюк, И.А. Умнягина // Пульмонология. – 2015. – Т. 25, №5. – С. 566–573

13. Борисова, Т.В. Особенности цитокинового профиля, фенотипа и фагоцитарной активности нейтрофилов крови больных бронхиальной астмой в период обострения / Т.В. Борисова, С.И. Сокуренок, А.В. Караулов // Клиническая практика. – 2013. - №3. - С. 11-19

14. Геренг, Е.А. Морфологические и биохимические маркеры воспалительных реакций в слизистой оболочке бронхов при тяжелой форме бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких / Е.А. Геренг, И.В. Суходоло, Р.И. Плешко, Л.М. Огородова и др. // Бюллетень сибирской медицины. – 2009. - №3. - С.11-17.

15. Гланц, С. Медико-биологическая статистика /пер. с англ. д-ра физ.-мат. наук Ю. А. Данилова; под ред. Н. Е. Бузикашвили и Д. В. Самойлова. – М.: Практика, 1999. - 459 с.

16. Горячкина, Л.А. Основные маркеры нейтрофильного воспаления при бронхиальной астме тяжелого течения / Л.А. Горячкина, Д.В. Битеева, Д.С. Фомина // Российский аллергологический журнал. - 2012. - №1. – С. 21-28.

17. Долинина, Л.Ю. Сравнительный анализ уровня провоспалительных цитокинов у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких в

зависимости от стадии заболевания / Л.Ю. Долинина, А.Н. Делиева, А.П. Каклюгин и др. // Архив внутренней медицины. – 2012. - №1 (3). – С. 64-67.

18. Ефремов, А.В. Содержание про- и противовоспалительных цитокинов в крови больных хронической обструктивной болезнью легких на разных стадиях заболевания / А.В. Ефремов, Р.Е. Тулеутаева, И.Д. Сафронов // Медицина и образование в Сибири. – 2014. - № 6. – С.23

19. Зурочка, А.В. Оценка иммунного статуса и продукции цитокинов у больных атопической и смешанной бронхиальной астмой / А.В. Зурочка, Е.Е. Дворчик, С.В. Квятковская, Е.В. Шестакова // Медицинская иммунология. – 2009. – Т.11, №2-3. - С. 279-286.

20. Ильина, Н.И. Алгоритм биофенотипирования и выбор таргетной терапии тяжелой неконтролируемой бронхиальной астмы с эозинофильным типом воспаления дыхательных путей / Н.И. Ильина, Н.М. Ненашева, С.Н. Авдеев, З.Р. Айсанов, В.В. Архипов, А.А. Визель, А.В. Емельянов, Н.П. Княжеская, О.М. Курбачева, И.В. Лещенко, Г.Л. Осипова, Е.А. Стырт, О.Н. Титова, Р.С. Фассахов, С.В. Федосенко// Российский аллергологический журнал. – 2017- № 3. - С. 5-18.

21. Ильина, Н.И. Иммуноопосредованные воспалительные заболевания. Объединяющая концепция / Н.И. Ильина, Г.О. Гудима // Российский аллергологический журнал. – 2005. - № 1. -С. 10-16.

22. Кетлинский, С.А. Цитокины / С.А. Кетлинский, А.С. Симбирцев – СПб.: ООО «Издательство Фолиант», 2008. - 552 с.

23. Козина, О.В. Клинико-биохимические аспекты развития обструкции бронхов при бронхиальной астме / О.В. Козина, В.В. Андрушкевич, А.Э. Сазонов и др. // Пульмонология. - 2008. - №2. - С. 52-56.

24. Колобовникова, Ю.В. Эозинофил и его роль в патологии // Ю.В. Колобовникова, О.И. Уразова, В.В. Новицкий, Л.С. Литвинова, И.О. Наследникова, О.В. Воронкова, К.О. Михеева // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2011. - № 2. – С. 6-13.

25. Колобовникова, Ю.В. Эозинофил: современный взгляд на кинетику, структуру и функцию // Ю.В. Колобовникова, О.И. Уразова, В.В. Новицкий, Л.С. Литвинова, С.П. Чумакова // Гематол. и трансфузиол. – 2012. - Т. 57, № 1. – С. 30-36.

26. Костина, Е.М. Специфическая и неспецифическая иммунотерапия некоторых клиничко-патогенетических вариантов бронхиальной астмы: дис. ... д-ра мед. наук: 14.03.09 / Костина Елена Михайловна. – Москва, 2014. – 336 с.

27. Косякова, Н.И. Вирус-индуцированная бронхиальная астма и роль герпетической инфекции в развитии бронхиальной обструкции у детей / Н.И. Косякова // Инфекционные болезни органов дыхания. – 2016. - № 4. - С. 49-52.

28. Куделя, Л.М. Поздняя астма-особенности клинического течения, иммунологические, функциональные и цитологические маркеры, оптимизация лечения: автореф. дис. ... доктора. мед. наук: 14.00.43 – Барнаул., 2002. – 46 с.

29. Курбачева, О.М. Современный взгляд на иммунопатогенез бронхиальной астмы / О.М. Курбачева и др. // Российский Аллергологический Журнал. – 2016. - № 2. – С.10-14.

30. Латышева, Т.В. Взаимосвязь дисбаланса Th1- и Th2-лимфоцитов и формы бронхиальной астмы / Т.В. Латышева, М.И. Варфоломеева, В.А. Удалова и др. // Иммунология. - 2005. - № 3. – с. 164-167.

31. Мачарадзе, Д.Ш. Неатопическая астма. Распространенность, клиника, лечение / Д.Ш. Мачарадзе, Х.А. Янаева // Лечащий врач. - 2019. - №4 // [Электронный ресурс] режим доступа: <https://www.lvrach.ru/2019/04/15437253/>

32. Негруца, К.В. Нарушение функции нейтрофилов как один из механизмов формирования воспаления у больных бронхиальной астмой, хронической обструктивной болезнью легких и внебольничной пневмонией: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.25 / Негруца Катрина Владимировна. – Санкт-Петербург, 2017. – 21 с.

33. Ненашева, Н.М. Т2- бронхиальная астма: характеристика эндотипа и биомаркеры / Н.М. Ненашева // Пульмонология. - 2019. – Т. 29, №2. - С. 216-228.

34. Ненашева, Н.М. Терапия бронхиальной астмы, основанная на биомаркерах / Н.М. Ненашева // Практическая пульмонология. - 2018. - № 4. - С. 3-11.
35. Ненашева, Н.М. Фенотипы бронхиальной астмы и выбор терапии / Н.М. Ненашева // Практическая пульмонология. - 2014. - № 2. - С. 2-11.
36. Ненашева, Н.М. GINA 2014: обзор некоторых основных изменений / Н.М. Ненашева // Практическая пульмонология. - 2014. - № 3. - С. 2-14.
37. Новиков, Д.К. Иммунологические фенотипы хронической обструктивной болезни легких: перспективы иммуннокоррекции / Д.К. Новиков, О.В. Смирнова // Вестник ВГМУ. – 2014. - Т.13, № 4. - С. 102-109.
38. Овчаренко, С.И. Фенотипы больных хронической обструктивной болезнью легких и исследование ECLIPSE: первые результаты / С.И. Овчаренко // Пульмонология. - 2011. - № 3. - С. 113-117.
39. Овчаренко, С.И. Хроническая обструктивная болезнь легких руководство для практикующих врачей / под ред. А. Г. Чучалина, С.И. Овчаренко, И.В. Лещенко, З.Р. Айсанов - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. - 192 с.
40. Платонов, А.Е. Статистический анализ в медицине и биологии: задачи, терминология, логика, компьютерные методы / А.Е. Платнов - М.: Издательство РАМН, 2000. - 51 с.
41. Прибылов, С.А. Провоспалительные цитокины при хронической обструктивной болезни легких // Вестник новых медицинских технологий. - 2007. - Т. 10, № 3. - С. 25-28
42. Пыцкий, В.И. Механизмы возникновения и развития бронхиальной астмы и основные принципы их лечения / В.И. Пыцкий – М.: Фармус Принт Медиа, 2008. - 56 с.
43. Рябова, Л.В. Различия каскада цитокинов у больных бронхиальной астмой в зависимости от стадии течения заболевания / Л.В. Рябова, А.В. Зурочка // Медицинская Иммунология. – 2007. - Т. 9, № 4-5. – С. 493-498.

44. Сидоренко, Е.В. Фенотип-ориентированная иммунотерапия бронхиальной астмы / Е.В. Сидоренко, Л.Р. Выхристенко // Иммунопатология, аллергология, инфектология. - 2018. - № 3. - С. 60-68.
45. Смольникова, М.В. Иммунологические маркеры неконтролируемого течения атопической бронхиальной астмы у детей / М.В. Смольникова С.В. Смирнова, Н.А. Ильенкова, О.С. Коноплева // Медицинская иммунология. - 2017. - Т. 19, № 4. - С. 453-460.
46. Собченко, С.А. Клинико-лабораторные особенности поздней астмы в периоде стабильного течения / С.А. Собченко, Е.В. Бейда, В.Ю. Кравцов // Российский семейный врач. - 2006. - Т.10, №4. - С.31-33.
47. Сорокина, Л.Н. Особенности цитокинового спектра у больных неаллергической бронхиальной астмой в сочетании с сопутствующим сахарным диабетом 2 типа / Л.Н. Сорокина, В.А. Иванов, В.Н. Минеев, В.В. Лим, В.И. Трофимов // Медицинская иммунология. – 2017. - Т. 19, № 3. - С. 313-318.
48. Суркова, Е.А. Особенности цитокиновой регуляции очагового и системного воспаления при ХОБЛ / Е.А. Суркова, Н.А. Кузубова, Т.П. Сесь, Арег А. Тотолян // Медицинская иммунология. – 2010. - Т. 12, № 4-5. – С. 349-354.
49. Трофименко, И.Н. Бронхиальная гиперреактивность, как фенотипическая характеристика хронической обструктивной болезни легких / И.Н. Трофименко, Б.А. Черняк // Пульмонология. – 2011. - №4. – С. 49-53.
50. Фассахов Р.В. Тяжелая бронхиальная астма: фенотипы и роль малых дыхательных путей / Р.В. Фассахов // Российский Аллергологический Журнал. – 2012. - № 6. – С. 49-54.
51. Федосеев, Г.Б. В поисках истины: что такое бронхиальная астма? / Г.Б.Федосеев, В.И.Трофимов, Н.Л.Шапорова, В.А.Александрин, Н.А.Филиппова, К.Н.Крякунов // Пульмонология. – 2015. – Т.25, №1. – С. 5–18.
52. Федосеев, Г.Б. Многоликая бронхиальная астма, диагностика, лечение, профилактика / Г.Б. Федосеев, В.И. Трофимов, М.А. Петров – С-Пб.: Нордмедиздат, 2011. – 344 с.

53. Федосеев, Г.Б. Многоликая бронхиальная астма – фенотипы и клинико-патогенетические варианты / Г.Б., Трофимов В.И., Шайлиева Л.О., Елисеева М.В., Крякунов К.Н. // Российский аллергологический журнал. - 2012. - № 1. - С. 50-57

54. Федосеев, Г.Б. Особенности воспаления у больных бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких и маркеры воспаления / Г.Б. Федосеев, В.И. Трофимов, В.Г. Тимчик, К.В. Негруца, Е.В. Горовнева, Т.С. Разумовская, В.А. Александрин, К.Н. Крякунов, Н.А. Филиппова, И.В. Бируля // Российский аллергологический журнал. – 2014. – № 2. - С. 44-58.

55. Федосеев, Г.Б. Характеристика мокроты для оценки наличия и характера воспаления бронхолегочного аппарата у больных бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких / Г.Б. Федосеев, В.И. Трофимов, К.В. Негруца, В.Г. Тимчик, Е.Е. Зуева, Е.В. Горовнёва, Н.Н. Рогачевская, Т.С. Разумовская, В.А. Александрин, В.И. Голубева, И.В. Бируля, Н.А. Филиппова, К.Н. Крякунов // Российский Аллергологический Журнал. – 2015. - № 1. – С. 15-26.

56. Федосеева, В.Н. Бактериальная аллергия / В.Н. Федосеева, Б.А. Молотилов, О.Н. Ларина, Т.Г. Федоскова – Пенза, 2004. – 231 с.

57. Фомина, Д.С. Активность нейтрофильной эластазы сыворотки крови у больных атопической бронхиальной астмой / Д.С. Фомина, Л.А. Горячкина, Н.М. Ненашева, Е.А. Нешкова // Пульмонология. – 2010. - №2. – С. 82-86

58. Фомина, Д.С. Фенотипирование бронхиальной астмы с элементами эндотипирования: перспективы развития направления / Д.С. Фомина, О.С. Дробик, Л.А. Горячкина // Consilium medicum. – 2012. - № 11. – С. 55-57.

59. Хаитов, Р.М. Руководство по клинической иммунологии / Р.М. Хаитов, Б.В. Пинегин, А.А. Ярилин - М.: Гэотар-Медиа, 2009. - 352 с.

60. Чучалин, А.Г. Респираторная медицина: руководство: в 3 т. / А. Г. Чучалин - М.: Литтерра, 2017. - Т. 1. - 640 с.

61. Чучалин, А.Г. Российское респираторное общество. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению бронхиальной астмы / А.Г.

Чучалин, З.Р. Айсанов, А.С. Белевский, А.Ю. Бушманов, О.С. Васильева, И.К. Волков, Н.А. Геппе, Н.П. Княжеская, Н.Н. Мазитова, Н.Н. Мещерякова, Н.М. Ненашева, В.А. Ревякина, И.В. Шубин // Пульмонология. – 2014. - № 2. – С. 11-32.

62. Чучалин, А.Г. Российское респираторное общество. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению хронической обструктивной болезни легких / А.Г. Чучалин, С.Н. Авдеев, З.Р. Айсанов, А.С. Белевский, И.В. Лещенко, Н.Н. Мещерякова, С.И. Овчаренко, Е.И. Шмелев // Пульмонология. – 2014. - №3. – С. 15-54.

63. Чучалин, А.Г. Федеральные клинические рекомендации Российского респираторного общества по использованию метода спирометрии / А.Г.Чучалин, З.Р.Айсанов, С.Ю.Чикина, А.В.Черняк, Е.Н.Калманова // Пульмонология. – 2014. - №6. – С. 11-24.

64. Шаповалова, Т.Г. Цитокиновый профиль и молекулы адгезии у больных хронической обструктивной болезнью легких, сочетанной с бронхиальной астмой // Т.Г. Шаповалова, М.В. Волкова, Н.В. Шелобанова // Медицинская иммунология. – 2010. - Т. 12, № 6. – С. 553-558.

65. Agache, I. Untangling asthma phenotypes and endotypes / I. Agache, C. Akdis, et al. // Allergy. – 2012. – Vol. 67, №7. - P. 835–846.

66. Agusti, A. Characterisation of COPD heterogeneity in the ECLIPSE cohort / A. Agusti, P. Calverley, B. Celli // Respir. Res. – 2010. - №11. – P. 122.

67. Agusti, A. Persistent systemic inflammation is associated with poor clinical outcomes in COPD: a novel phenotype / A. Agusti, L.D. Edwards, S.I. Rennard, W. MacNee, R. Tal-Singer, B.E. Miller et al. // PLoS. One. - 2012. - Vol. 7, №5. – P. 1-10.

68. Amaral, R. Having concomitant asthma phenotypes is common and independently relates to poor lung function in NHANES 2007–2012 / R. Amaral, J.A. Fonseca, T. Jacinto, A.M. Pereira, A. Malinovschi, C. Janson, K. Alving // Clin. Transl. Allergy – 2018. - №8.- P. 13

69. Amitani, R. Effects of human neutrophil elastase and Pseudomonas aeruginosa proteinases on human respiratory epithelium / R. Amitani, R. Wilson, A.

Rutman, R. Read, C. Ward, D. Burnett, R.A. Stockley, P.J. Cole // *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* – 1991. – Vol. 4, №1. – P. 26-32.

70. Andersen, H. High hospital burden in overlap syndrome of asthma and COPD / H. Andersen, P. Lampela, A. Nevanlinna, et al. // *Clin. Respir. J.* – 2013. - №7 (4). – P. 342-346.

71. Bachert, C. Role of staphylococcal superantigens in upper airway disease / C. Bachert, N. Zhang, J. Patou, T. van Zele, P. Gevaert / *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* – 2008. – V. 8, №1. – P. 34-38.

72. Bafadhel, M. Blood eosinophil guided prednisolone therapy for exacerbations of COPD: a further analysis / M. Bafadhel, L. Davies, P.M. Calverley et al. // *Eur. Respir. J.* - 2014. - № 44. - P. 789-791.

73. Bafadhel, M. Blood eosinophils to direct corticosteroid treatment of exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease: a randomized placebo-controlled trial / M. Bafadhel, S. McKenna, S. Terry et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* - 2012. – V.86, №1. - P. 48-55.

74. Balzano, G. Eosinophilic inflammation in stable chronic obstructive pulmonary disease. Relationship with neutrophils and airway function / G. Balzano, F. Stefanelli, C. Iorio, A. De Felice, E.M. Melillo, M. Martucci, G. Melillo // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* - 1999. – Vol. 160, № 5 – P. 1486-1492.

75. Banda, M.J. Alpha 1-proteinase inhibitor is a neutrophil chemoattractant after proteolytic inactivation by macrophage elastase / M.J. Banda, Rice, A.G. Griffin, R.M. Senior // *J. Biol. Chem.* – 1988. – Vol. 263, №9. – P. 4481-4484.

76. Bank, U. Evidence for crucial role of neutrophil-derived serine proteases in the inactivation of interleukin-6 at sites of inflammation / U. Bank, B. Kupper, D. Reinhold, T. Hoffmann, S. Ansorge // *FEBS Lett.* – 1999. – Vol. 461, №3 – P. 235–240.

77. Bardoel, B.W. The balancing act of neutrophils / B.W. Bardoel, E.F. Kenny, G. Sollberger, A. Zychlinsky // *Cell Host Microbe.* – 2014. – Vol.15, №5. – P. 526-536.

78. Barnes, N.C. Blood eosinophils as a marker of response to inhaled corticosteroids in COPD / N.C. Barnes, R. Sharma, S. Lettis, P.M. Calverley // *Eur. Respir. J.* – 2016. – Vol. 47, №5. – P. 1374-1382.
79. Barnes, P.J. The cytokine network in asthma and chronic obstructive pulmonary disease / P.J. Barnes // *J. Clin. Invest.* – 2008. – Vol. 118, № 11. – P. 3546-3556.
80. Bartoli, M.L. Biological markers in induced sputum of patients with different phenotypes of chronic airway obstruction / M.L. Bartoli, A. Di Franco, B. Vagaggini, E. Bacci, S. Cianchetti, F.L. Dente, M. Tonelli, P.L. Paggiaro // *Respiration.* – 2009. – V. 77, № 3. – P. 265-272.
81. Bedard, M. Release of interleukin-8, interleukin-6, and colonystimulating factors by upper airway epithelial cells: implications for cystic fibrosis / M. Bedard, C.D. McClure, N.L. Schiller, C. Francoeur, A. Cantin, M. Denis // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* – 2003. – Vol. 9, №4 – P. 455–462.
82. Beier, K.C. Master switches of T-cell activation and differentiation / K.C. Beier, T. Kallinich, E. Hamelmann // *Eur. Respir. J.* - 2007. - №29. – P. 804–812.
83. Bel, E.H. Clinical phenotypes of asthma / E.H. Bel // *Curr. Opin. Pulm. Med.* – 2004. – Vol.10, №1. – p. 44-50.
84. Berry, M. Pathological features and inhaled corticosteroid response of eosinophilic and non-eosinophilic asthma / M. Berry, A. Morgan, D. Shaw et al. // *Thorax.* – 2007. – V. 62 (12). – P. 1043–1049.
85. Bizeto, L. Interrelationship between serum and sputum inflammatory mediators in chronic obstructive pulmonary disease / L. Bizeto, A.B. Mazzolini, M. Ribeiro, R. Stelmach, A. Cukier, M.P. Nunes // *Braz. J. Med. Biol. Res.* – 2008. – V. 41(3). – P. 193-198.
86. Boorsma, M. Long-term effects of budesonide on inflammatory status in COPD / M. Boorsma, R. Lutter, M.A. van de Pol, T.A. Out, H.M. Jansen, R.E. Jonkers // *COPD.* – 2008. – V. 5 (2). – P. 97-104.

87. Borish, L. The immunology of asthma: Asthma phenotypes and their implications for personalized treatment / L. Borish // *Ann. Allergy. Asthma. Immunol.* – 2016. – V. 117 (2). – P. 108-114.
88. Brightling, C.E. Sputum eosinophilia and the short term response to inhaled mometasone in chronic obstructive pulmonary disease / C.E. Brightling, S. McKenna, B. Hargadon et al. // *Thorax.* - 2005. - № 60. - P. 193-198.
89. Burge, P.S. Randomised, double blind, placebo controlled study of fluticasone propionate in patients with moderate to severe chronic obstructive pulmonary disease: the ISOLDE trial / P. S. Burge, P. M. Calverley, P. W. Jones, S. Spencer, J. A. Anderson, T. K. Maslen // *BMJ.* – 2000. – V. 320 (7245). – P. 1297–1303.
90. Bystrom, J. Analysing the eosinophil cationic protein--a clue to the function of the eosinophil granulocyte / J. Bystrom, K. Amin, D. Bishop-Bailey // *Respir. Res.* - 2011. – V. 12 (1). - P. 10 // [Электронный ресурс] режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3030543/> <https://doi.org/10.1186/1465-9921-12-10>
91. Cairns, C.B. Acute asthma exacerbations: phenotypes and management / C.B. Cairns // *Clin. Chest. Med.* - 2006. - Vol. 27, №1. – P. 99-108.
92. Calverley, P.M. Maintenance therapy with budesonide and formoterol in chronic obstructive pulmonary disease / P.M. Calverley, W. Boonsawat, Z. Cseke, N. Zhong, S. Peterson, H. Olsson // *Eur. Respir. J.* – 2003 – Vol. 22, №6 – P. 912–919.
93. Carr, T. F. Eosinophilic bioactivities in severe asthma / T.F. Carr, S. Berdnikovs, H.U. Simon, B.S. Bochner, L.J. Rosenwasser // *World. Allergy. Organ. J.* - № 9. – P. 21.
94. Celli, B.R. Inflammatory biomarkers improve clinical prediction of mortality in chronic obstructive pulmonary disease / B.R. Celli, N. Locantore, J. Yates, R. Tal-Singer, B.E. Miller, P. Bakke, P. Calverley, H. Coxson, C. Crim, L.D. Edwards, D.A. Lomas // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2012. - Vol. 185, №10. - P. 1065-1072.

95. Champagne, B. Proteolytic cleavage of ICAM-1 by human neutrophil elastase / B. Champagne, P. Tremblay, A. Cantin, Y. Pierre // *J. Immunol.* – 1998. – Vol. 161, №11 – P. 6398-6405.
96. Cheng, S.L. Effectiveness using higher inhaled corticosteroid dosage in patients with COPD by different blood eosinophilic counts / S.L. Cheng, C.H. Lin // *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* // 2016. – Vol.11, №1. – P. 2341-2348.
97. Chung, K.F. Cytokines in chronic obstructive pulmonary disease / K.F. Chung // *Eur. Respir. J.* – 2001. – №18 (34). – P. 50–59.
98. Chung, K.F. Precision medicine in asthma: linking phenotypes to targeted treatments / K.F. Chung // *Curr. Opin. Pulm. Med.* – 2018. – Vol. 24, №1. – P. 4-10.
99. Cianchetti, S. Are sputum eosinophil cationic protein and eosinophils differently associated with clinical and functional findings of asthma? / S. Cianchetti, E. Bacci, L. Ruocco, T. Pavia, M.L. Bartoli, C. Cardini, F. Costa, A. Di Franco, L. Malagrino, F. Novelli, B. Vagaggini, A. Celi, F. Dente, P. Paggiaro // *Clin. Exp. Allergy.* - 2014. – Vol. 44, №5. – P. 673-680.
100. Ciepiela, O. Neutrophils in asthma-a review / O. Ciepiela, M. Ostafin, U. Demkow // *Respir. Physiol. Neurobiol.* - 2015. – Vol. 209. – P. 13-16.
101. Cowan, D.C. Effects of steroid therapy on inflammatory cell subtypes in asthma / D.C. Cowan, J.O. Cowan, R. Palmay, A. Williamson, D.R. Taylor // *Thorax.* – 2010. – Vol. 65(5). - P. 384-390;
102. Crim, C. Pneumonia risk with inhaled fluticasone furoate and vilanterol compared with vilanterol alone in patients with COPD / C. Crim, M.T. Dransfield, J. Bourbeau, P.W. Jones, N.A. Hanania, D.A. Mahler, J. Vestbo, A. Wachtel, F.J. Martinez, F. Barnhart, S. Lettis, P.M. Calverley // *Ann. Am. Thorac. Soc.* – 2015. – Vol. 12, № 1. – P. 27–34.
103. Damiano, V.V. Immunolocalization of elastase in human emphysematous lungs V.V. Damiano, A. Tsang, U. Kucich et al. // *J. Clin. Invest.* -1986. -Vol. 78, № 2. - P. 482-493.

104. de Oliveira, P.C. Eosinophil cationic protein: Overview of biological and genetic features / P.C. de Oliveira, P.O. de Lima, D.T. Oliveira, M.C. Pereira // *DNA Cel.l Biol.* – 2012. Vol. 31, №9. – P. 1442–1446.
105. DiCosmo, B.F. Airway epithelial cell expression of interleukin-6 in transgenic mice. Uncoupling of airway inflammation and bronchial hyperreactivity / B.F. DiCosmo, G.P. Geba, D. Picarella, J.A. Elias, J.A. Rankin, B.R. Stripp et al. // *J. Clin. Invest.* – 1994. – Vol. 94 (5). – P. 2028–2035.
106. Douwes, J. Non-eosinophilic asthma: importance and possible mechanisms / J. Douwes, P. Gibson, J. Pekkanen, N. Pearce // *Thorax.* – 2002. – Vol.57 (7). – P. 643-648.
107. Eltboli, O. COPD exacerbation severity and frequency is associated with impaired macrophage efferocytosis of eosinophils / O. Eltboli, M. Bafadhel, F. Hollins et al. // *BMC Pulm. Med.* - 2014. - №14. – P. 112. // [Электронный ресурс] режим доступа: <https://bmcpulmed.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/1471-2466-14-112>
108. Ernst, P. Inhaled corticosteroids in COPD: the clinical evidence / P. Ernst, N. Saad, S. Suissa // *Eur. Respir. J.* - 2015. – Vol. 45, №2. – P. 525-537.
109. Esteban-Gorgojo, I. Non-eosinophilic asthma: current perspectives / I. Esteban-Gorgojo, D. Antolin-Amerigo, J. Dominguez-Ortega, S. Quirce // *Journal of Asthma and Allergy.* – 2018. - №11. – P. 267–281.
110. Fahy, J.V. Eosinophilic and neutophilic inflammation in asthma. Insights from clinical studies / J.V. Fahy // *Proc. Am. Thorac. Soc.* – 2009. - Vol. 6. – P. 256-259.
111. Finkelstein, R. Alveolar inflammation and its relation to emphysema in smokers / R. Finkelstein, R.S. Fraser, H. Ghezzi et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* - 1995. - Vol. 152. - P. 1666–1672.
112. Fiorini, G. Serum ECP and MPO are increased during exacerbations of chronic bronchitis with airway obstruction / G. Fiorini<sup>1</sup>, S. Crespi<sup>1</sup>, M. Rinaldi<sup>1</sup>, E. Oberti, R. Vigorelli, G. Palmieri<sup>1</sup> // *Biomed. Pharmacother.* - 2000. – Vol. 54, №5. – P. 274–278.

113. Foley, S.C. Images in allergy and immunology: neutrophils in asthma / S.C. Foley, Q. Hamid // *J. Allergy. Clin. Immunol.* – 2007. – Vol.119. – P. 1282–1286.
114. Fu, L.S. Cell Penetrating Peptide Derived from Human Eosinophil Cationic Protein Decreases Airway Allergic Inflammation / L.S. Fu, Y.R. Wu, S.L. Fang, J.J. Tsai, H.K. Lin, Y.J. Chen, T.Y. Chen, M.D. Chang // *Sci. Rep.* – 2017. – Vol. 7(1) // [Электронный ресурс] режим доступа: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-12390-8>
115. Fujimoto, K. Airway inflammation during stable and acutely exacerbated chronic obstructive pulmonary disease / K. Fujimoto, M. Yasuo, K. Urushibata, M. Hanaoka, T. Koizumi, K. Kubo // *Eur. Respir. J.* – 2005. – Vol. 25(4). – P. 640-646.
116. Gessner, C. Exhaled breath condensate cytokine patterns in chronic obstructive pulmonary disease. C. Gessner, R. Scheibeb, M. Wotzelb, S. Hammerschmidta, H. Kuhna, L. Engelmanna, G. Hoheisela, A. Gillissenc, U. Sackb, H. Wirtz // *Respir. Med.* – 2005. – Vol. 99, №19. – P. 1229–1240
117. Gleich, G. J. Mechanisms of eosinophil-associated inflammation / G. J. Gleich // *J. Allergy. Clin. Immunol.* – 2000. – Vol. 105 (4). – P. 651–663
118. Global Initiative for Asthma. Global Strategy for Asthma Management and Prevention (GINA). National Institutes of Health; National Heart, Lung, and Blood Institute. Updated 2014 // [Электронный ресурс] режим доступа: <http://www.doctorbeketov.ru/data/documents/Bronhialnaya-astma-GYNA-2014-russkaya-versiya.pdf>
119. Global Initiative for Asthma. Global Strategy for Asthma Management and Prevention (GINA). National Institutes of Health; National Heart, Lung, and Blood Institute. Updated 2019 // [Электронный ресурс] режим доступа: <https://ginasthma.org>
120. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. Global Strategy for the Diagnosis, Management and Prevention (GOLD). National Institutes of Health; National Heart, Lung, and Blood Institute. Updated 2014 // [Электронный ресурс] режим доступа: [https://goldcopd.org/wpcontent/uploads/2016/04/GOLD\\_Report\\_Russian\\_2014.pdf](https://goldcopd.org/wpcontent/uploads/2016/04/GOLD_Report_Russian_2014.pdf)

121. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. Global Strategy for the Diagnosis, Management and Prevention (GOLD). National Institutes of Health; National Heart, Lung, and Blood Institute. Updated 2019 // [Электронный ресурс] режим доступа: <http://www.goldcopd.org>

122. Gorka, K. Relationship between the thickness of bronchial wall layers, emphysema score, and markers of remodeling in bronchoalveolar lavage fluid in patients with chronic obstructive pulmonary disease / K. Gorka, J. Soja, B. Jakiela, H. Plutecka, I. Gross-Sondej, A. Cmiel, S. Mikrut, P. Loboda, A. Andrychiewicz, P. Jurek, K. Sladek // *Pol. Arch. Med. Wewn.* – 2016. – Vol. 126 (6). – P. 402-410.

123. Gorska, K. Eosinophilic and Neutrophilic Airway Inflammation in the Phenotyping of Mild-to-Moderate Asthma and Chronic Obstructive Pulmonary Disease / K. Gorska, M. Paplinska-Goryca, P. Nejman-Gryz, K. Goryca, R. Krenke // *COPD.* – 2017. – Vol. 14, №2. – P. 181-189.

124. Green, R.H. Analysis of induced sputum in adults with asthma: identification of subgroup with isolated sputum neutrophilia and poor response to inhaled corticosteroids / R.H. Green, C.E. Brightling, G. Woltmann, D. Parker, A.J. Wardlaw, I.D. Pavord // *Thorax.* – 2002. – Vol. 57, № 10. – P. 875–879.

125. Gregory, A.D. Neutrophil elastase promotes myofibroblast differentiation in lung fibrosis / A.D. Gregory, C.R. Kliment, H.E. Metz, K.H. Kim, J. Kargl, B.A. Agostini, L.T. Crum, E.A. Oczypok, T.A. Oury, A.M. Houghton // *J. Leukoc. Biol.* – 2015. – Vol. 98, №2. - P.143-152.

126. Guo, C.L. Serum Eosinophil Cationic Protein Is a Useful Marker for Assessing the Efficacy of Inhaled Corticosteroid Therapy in Children with Bronchial Asthma / C.L. Guo, X.M. Sun, X.W. Wang, Q. Guo // *Tohoku. J. Exp. Med.* – 2017. – Vol. 242(4). – P. 263-271.

127. Haldar, P. Cluster analysis and clinical asthma phenotypes / P. Haldar, I.D. Pavord, D.E. Shaw, M.A. Berry, M. Thomas, C.E. Brightling, A.J. Wardlaw, R.H. Green // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2008. - Vol. 178(3). - P. 218-224

128. Halwani, R. Role of Transforming growth factor- in airway remodeling in asthma / R. Halwani, S. Al-Muchsen, H. Al-Jahdali, Q. Hamid // *Am. J. Respir. Cell Biol.* – 2011. – Vol. 44, №2 - P. 127-133.

129. Han, M.K. Chronic obstructive pulmonary disease phenotypes: the future of COPD / M.K. Han, A. Agusti, P.M. Calverley, B.R. Celli, G. Criner, J.L. Curtis, L.M. Fabbri, J.G. Goldin, P.W. Jones, W. Macnee, B.J. Make, K.F. Rabe, S.I. Rennard, F.C. Sciurba, E.K. Silverman, J. Vestbo, G.R. Washko, E.F. Wouters, F.J. Martinez // *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* - 2010. - Vol.182, №5 - P.598-604.

130. Hashimoto, S. Current treatment of severe asthma / S. Hashimoto, E.H. Bel // *Clin. Expl. Allergy.* – 2012. – Vol. 42 (5). – P. 693–705.

131. Hinds, D.R. Identification of responders to inhaled corticosteroids in a chronic obstructive pulmonary disease population using cluster analysis / D.R. Hinds, R.L. DiSantostefano, H.V. Le, S. Pascoe // *BMJ Open.* - 2016. – Vol. 6 (6) // [Электронный ресурс] <https://bmjopen.bmj.com/content/bmjopen/6/6/e010099.full.pdf>

132. Hoenderdos, K. The neutrophil in chronic obstructive pulmonary disease / K. Hoenderdos, A. Condliffe // *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* – 2013. – Vol. 48, №5. – P. 531-539.

133. Hogan, S.P. Eosinophils: biological properties and role in health and disease / S.P. Hogan, H.F. Rosenberg, R. Moqbel, S. Phipps, P.S. Foster, P. Lacy, A.B. Kay, M.E. Rothenberg // *Clinical and Experimental Allergy.*- 2008. – Vol. 38, № 5. – P. 709-750.

134. Holgate, S.T. Innate and adaptive immune responses in asthma / S.T. Holgate // *Nat. Med.* 2012. - № 18. – P. 673–683.

135. Holgate, S.T. Novel targets of therapy in asthma / S.T. Holgate // *Curr. Opin. Pulm. Med.* – 2009. – Vol. 15, №1 - P. 63-71.

136. Hyvarinen, M.K. Eosinophil activity in infants hospitalized for wheezing and risk of persistent childhood asthma/ M.K. Hyvarinen, A. Kotaniemi-Syrjanen, T.M. Reijonen, E. Piippo-Savolainen, M. Korppi // *Pediatr. Allergy. Immunol.* – 2010. – Vol. 21. – P. 96-103.

137. Jatakanon, A. Neutrophilic inflammation in severe persistent asthma / A. Jatakanon, C. Uasuf, W. Maziak, S. Lim, K.F. Chung, P.J. Barnes // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 1999. – Vol. 160 (5). – P. 1532–1539
138. Jeon, S.H. Mechanisms underlying TGF- $\beta$ 1-induced expression of VEGF and Flk-1 in mouse macrophages and their implications for angiogenesis / S.H. Jeon, B.C. Chae, H.A. Kim // *J. Leukos. Biol.* - 2007. – Vol. 81(2). - P. 557-566.
139. Kay, A.B. A role for eosinophils in airway remodeling in asthma / A.B. Kay, S. Phipps, D.S. Robinson // *Trends. Immunol.* - 2004. – Vol. 25(9). - P. 477-482.
140. Koblizek, V. Chronic Obstructive Pulmonary Disease: official diagnosis and treatment guidelines of the Czech Pneumological and Phthisiological Society; a novel phenotypic approach to COPD with patient-oriented care / V. Koblizek, J. Chlumsky, V. Zindr, K. Neumannova, J. Zatloukald, J. Zakf, V. Sedlaka, J. Kocianovag, J. Zatloukalh, K. Hejduki, S. Pracharovaa // *Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky. Olomouc. Czech. Repub.* – 2013. – Vol. 157, №2. – P. 189-201.
141. Kupczyk, M. US and European severe asthma cohorts: what can they teach us about severe asthma? / M. Kupczyk, S. Wenzel // *Journal of Internal Medicine.* - 2012. – Vol. 272, №2. - P. 121-132.
142. Le-Barillec, K. Proteolysis of monocyte CD14 by human leukocyte elastase inhibits lipopolysaccharide-mediated cell activation / K. Le-Barillec, M. Si-Tahar, V. Balloy, M. Chignard // *J. Clin. Invest.* – 1999. – Vol. 103 (7) – P. 1039-1046.
143. Lee, B.J. Protective effects of basic fibroblast growth factor in the development of emphysema induced by interferon / B.J. Lee, H.G. Moon, T.S. Shin, S.G. Jeon, E.Y. Lee, Y.S. Gho, C.G. Lee, Z. Zhu, J.A. Elias, Y.K. Kim // *Exp. Molek. Med.* - 2011. - Vol. 43, №4. - P. 169-176.
144. Leigh, R. Stable COPD: predicting benefit from high-dose inhaled corticosteroid treatment / R. Leigh, M.M. Pizzichini, M.M. Morris, F. Maltais, F.E. Hargreave, E. Pizzichini // *Eur. Respir. J.* – 2006. – Vol. 27, №5. – P. 964-971.
145. Lemiere, C. Airway inflammation assessed by invasive and noninvasive means in severe asthma: eosinophilic and noneosinophilic phenotypes / C. Lemiere, P.

Ernst, R. Olivenstein, Y. Yamauchi, K. Govindaraju, M.S. Ludwig, J.G. Martin, Q. Hamid // *J. Allergy. Clin. Immunol.* - 2006. – Vol. 118, №5. – P. 1033–1039

146. Levine, S.J. Narrative review: the role of Th2 immune pathway modulation in the treatment of severe asthma and its phenotypes / S.J. Levine, S.E. Wenzel // *Ann. Intern. Med.* – 2010. – Vol. 152 (4). – P. 232-237.

147. Lin, T.Y. Asthma phenotypes and endotypes / T.Y. Lin, A.H. Poon, Q. Hamid // *Curr. Opin. Pulm. Med.* – 2013 – Vol. 19, №1. – P. 18-23.

148. Lotvall, J. Asthma endotypes: a new approach to classification of disease entities within the asthma syndrome / J. Lotvall, A. Akdis, L.B. Bacharier, L. Bjermer, T.B. Casale, A. Custovic, R.F. Lemanske, A.J. Wardlaw, S.E. Wenzel, P.A. Greenberger // *J. Allergy. Clin. Immunol.* – 2011. – Vol. 127(2). – P. 355-360.

149. Louis, R.E. Evidence of mast-cell activation in a subset of patients with eosinophilic chronic obstructive pulmonary disease / R.E. Louis, D. Cataldo, M.G. Buckley, J. Sele, M. Henket, L.C. Lau, P. Bartsch, A.F. Walls, R. Djukanovic // *Eur. Respir. J.* - 2002. – Vol. 20 (2). – P.325-331.

150. Loureiro, C. C. Blurred lines. Eosinophilic COPD: ACOS or COPD phenotype? / C. C. Loureiro // *Rev. Por. Pneumol.* – 2016. –Vol. 22(5). – P. 279-282

151. Mac Nee, W. New paradigms in the pathogenesis of COPD / W. Mac Nee, R.M. Tuder // *Proc. Am. Thorac. Soc.* – 2009. - Vol. 6, №6 - P. 527-531.

152. Mac Nee, W. Pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease / W. Mac Nee // *Proc. Am. Thorac. Soc.* – 2005. – Vol. 2. – P. 258-266.

153. March, M.E. The genetics of asthma and allergic disorders / M.E. March, P.M. Sleiman, H. Hakonarson // *Discov. Med.* – 2011. – Vol. 11 (56). – P. 35-45.

154. Masoli, M. The global burden of asthma: executive summary of the GINA Dissemination Committee report / M. Masoli, D. Fabian, S. Holt, R. Beasley // *Allergy.* – 2004. – Vol. 59, №5. – P. 469-478.

155. McDonald, V.M. Multidimensional assessment and tailored interventions for COPD: respiratory utopia or common sense? / V.M McDonald, I. Higgins, L.G. Wood, P.G. Gibson // *Thorax.* – 2013. – Vol. 68 (7). – P. 691-694.

156. Meyer, N. Differential serum protein markers and the clinical severity of asthma / N. Meyer, S.J. Nuss, T. Rothe, A. Siebenhüner, C.A. Akdis, G. Menzl // *J. Asthma. Allergy.* – 2014. – Vol. 7. – P. 67-75
157. Miller, M.R. Standardisation of spirometry / M.R. Miller, J. Hankinson, V. Brusasco, F. Burgos, R. Casaburi, A. Coates, R. Crapo, P. Enright, C.P.M. van der Grinten, P. Gustafsson, R. Jensen, D.C. Johnson, N. MacIntyre, R. McKay, D. Navajas, O.F. Pedersen, R. Pellegrino, G. Viegi, J. Wanger // *Eur. Respir. J.* – 2005. - Vol. 6, №2. - P. 319-338.
158. Miravittles, M. A proposal for the withdrawal of inhaled corticosteroids in the clinical practice of chronic obstructive pulmonary disease / M. Miravittles, B.G. Cosio, A. Arnedillo, M. Calle, B. Alcazar-Navarrete, C. Gonzalez, C. Esteban, J.A. Trigueros, J.M.R. Gonzalez-Moro, J.A.Q. Jimenez, A. Balloira // *Respir. Res.*- 2017. – Vol. 18 (1). – P.198
159. Miravittles, M. Treatment of COPD by clinical phenotypes: putting old evidence into clinical practice / M. Miravittles, J.J. Soler-Cataluna, M. Calle, J.B. Soriano // *Eur. Respir. J.* – 2013. – Vol. 41 (6). – P. 1252–1256.
160. Monteseirin, J. Neutrophils and asthma / J. Monteseirin // *Journal of Investigational Allergology and Clinical.* – 2009. – Vol. 19 (5). – P. 340–354.
161. Moore, W.C. Sputum neutrophil counts are associated with more severe asthma phenotypes using cluster analysis / W.C. Moore, A.T. Hastie, X. Li, H. Li, W.W. Busse, N.N. Jarjour, S.E. Wenzel, S.P. Peters, D.A. Meyers, E.R. Bleeker // *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* - 2014. – Vol. 133 (6). – P. 1557-1563.
162. Nair, P. Therapeutic implications of «neutrophilic asthma» / P. Nair, A. Aziz-Ur-Rehman, K. Radford // *Curr. Opin. Pulm. Med.* – 2015. – Vol. 21 (1). – P. 33-38.
163. Nieto, A. Adverse effects of inhaled corticosteroids in funded and nonfunded studies / A. Nieto, A. Mazon, R. Pamies, J.J. Linana, A. Lanuza, F.O. Jimenez, A. Medina-Hernandez, F.J. Nieto // *Arch. Intern. Med.* – 2007. – Vol. 167 (19). – P. 2047–2053.

164. O'Donnell, D.E. Effect of fluticasone propionate/salmeterol on lung hyperinflation and exercise endurance in COPD. D.E. O'Donnell, F. Sciurba, B. Celli, D.A. Mahler, K.A. Webb, C.J. Kalberg, K. Knobil // *Chest.* – 2006. – Vol. 130, №3. – P. 647–656.
165. Ortega, H. Burden of disease associated with a COPD eosinophilic phenotype / H. Ortega, J.P. Llanos, M.H. Lafeuille, G. Germain, M.S. Duh, C.F. Bell, S.R. Sama, B. Hahn // *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* – 2018. – Vol. 13. – P. 2425-2433.
166. Owen, C.A. Cytokines regulate membrane-bound leukocyte elastase on neutrophils: a novel mechanism for effector activity / C.A. Owen, M.A. Campbell, S.S. Boukedes, E.J. Campbell // *Am. J. Physiol.* – 1997. – Vol. 272, №3. – P. 385–393.
167. Paone, G. Analysis of sputum markers in the evaluation of lung inflammation and functional impairment in symptomatic smokers and COPD patients / G. Paone, V. Conti, A. Vestri, A. Leone, G. Puglisi, F. Benassi, G. Brunetti, G. Schmid, I. Cammarella, C. Terzano // *Disease Markers* 2011. – Vol. 31, № 2. – P. 91–100.
168. Pascoe, S. Blood eosinophil counts, exacerbations and response to the addition of inhaled fluticasone furoate to vilanterol in patients with chronic obstructive pulmonary disease: a secondary analysis of data from two parallel randomized controlled trials / S. Pascoe, N. Locantore, M. Dransfield, N.C. Barnes, I.D. Pavord // *Lancet. Respir. Med.* – 2015. - V. 3. – P. 435–442.
169. Pavord, I.D. Blood eosinophils and inhaled corticosteroid/longacting  $\beta$ -2 agonist efficacy in COPD / I.D. Pavord, S. Lettis, N. Locantore, S. Pascoe, P.W. Jones, J.A. Wedzicha, N.C. Barnes // *Thorax.* – 2016. – Vol. 71. – P. 118–125.
170. Peona, V. Serum eosinophilic cationic protein: is there a role in respiratory disorders? / V. Peona, M. De Amici, S. Quaglini, G. Bellaviti, A.M. Castellazzi, G. Marseglia, G. Ciprandi // *J. Asthma.* - 2010. – Vol. 47, №2. – P. 131-134.
171. Popov, T.A. Some technical factors influencing the induction of sputum for cell analysis / T.A. Popov, M.M. Pizzichini, E. Pizzichini, R. Kolendovicz, Z. Punthakee, J. Dolovich, F.E. Hargreave // *Eur. Respir. J.* -1995. - Vol.8. - P. 559-565.

172. Price, D. Risk-to-benefit ratio of inhaled corticosteroids in patients with COPD / D. Price, B. Yawn, G. Brusselle, A. Rossi // *Prim. Care. Respir. J.* – 2013. – Vol. 22, №1. – P. 92-100.
173. Ray, A. Neutrophilic inflammation in asthma and association with disease severity / A. Ray, J.K. Kolls // *Trends in Immunology.* – 2017. – Vol. 38, № 12. – P. 942-954.
174. Rothenberg, M.E. The eosinophil / M.E. Rothenberg, S.P. Hogan // *Annu. Rev. Immunol.* – 2006. - Vol. 24, № 1. – P. 147-174.
175. Ruivo, E.F. Clickable 4-Oxo- $\beta$ -lactam-Based Selective Probing for Human Neutrophil Elastase Related Proteomes / E.F. Ruivo, L.M. Gonçalves, L.A. Carvalho, R.C. Guedes, S. Hofbauer, J.A. Brito, M. Archer, R. Moreira, S.D. Lucas // *ChemMedChem.* - 2016. – Vol.11, №18. – P. 2037-2042.
176. Schleich, F.N. Distribution of sputum cellular phenotype in a large asthma cohort: predicting factors for eosinophilic vs neutrophilic inflammation / F.N. Schleich, M. Manise, J. Sele, M. Henket, L. Seidel, R. Louis // *BMC Pulm. Med.* – 2013. – Vol. 13. – P. 11 // [Электронный ресурс] режим доступа: <https://doi.org/10.1186/1471-2466-13-11>
177. Schleich, F. Heterogeneity of phenotypes in severe asthmatics. The Belgian Severe Asthma Registry (BSAR) / F. Schleich, G. Brusselle, R. Louis et al. // *Respiratory Medicine.* – 2014. – Vol. 108, № 12. – P. 1723–1732.
178. Siddiqui, S.H. Blood eosinophils: a biomarker of response to extrafine beclomethasone/formoterol in chronic obstructive pulmonary disease / S.H. Siddiqui, A. Guasconi, J. Vestbo, P. Jones, A. Agusti, P. Paggiaro, J.A. Wedzicha, D. Singh // *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* - 2015. – Vol. 192, №4. – P. 523–525
179. Simpson, J.L. Inflammatory subtypes in asthma: assessment and identification using induced sputum / J.L. Simpson, R. Scott, M.J. Boyle, P.G. Gibson // *Respirology.* – 2006. – Vol. 11. – P. 54–61
180. Sin, D.D. What is asthma–COPD overlap syndrome? / D.D. Sin, M. Miravittles, D.M. Mannino, J.B. Soriano, D. Price, B.R. Celli, J.M. Leung, Y. Nakano,

H.Y. Park, P.A. Wark, M.E. Wechsler // *Eur. Respir. J.* – 2016. – Vol. 48, №3. – P. 664-673.

181. Singh, D. Eosinophilic inflammation in COPD: prevalence and clinical characteristics / D. Singh, U. Kolsum, C.E. Brightling, N. Locantore, A. Agusti, R. Tal-Singer // *Eur. Respir. J.* – 2014. – Vol. 44, №6. – P. 1697-1700.

182. Soler-Cataluna, J.J. The concept of control of COPD in clinical practice / J.J. Soler-Cataluna, B.A. Navarrete, M. Miravittles // *International Journal of COPD.* – 2014. - № 9. – P. 1397–1405.

183. Steinke, J.W. Th2 cytokines and asthma. Interleukin-4: its role in the pathogenesis of asthma, and targeting it for asthma treatment with interleukin - 4 receptor antagonists / J.W. Steinke, L. Borish // *Respir. Res.* - 2001. - Vol. 2. - P. 66-70.

184. Szafranski, W. Efficacy and safety of budesonide/formoterol in the management of chronic obstructive pulmonary disease / W. Szafranski, A. Cukier, A. Ramirez, G. Mengaz, R. Sansores, S. Nahabedian, S. Peterson, H. Olsson // *Eur. Respir. J.* – 2003. – Vol. 21. – P. 74–81.

185. Tanaka, H. Increased airway vascularity in newly diagnosed asthma using a highmagnification bronchovideoscope / H. Tanaka, G. Yamada, T. Saikai, M. Hashimoto, S. Tanaka, K. Suzuki, M. Fujii, H. Takahashi, S. Abe // *Am. Respir. Crit. Care Ved.* – 2003. – Vol. 168. – P. 1495-1499.

186. Tordera, M.P. Complexity in asthma: Inflammation and scalefree net works / M.P. Tordera // *Arch. Bronconeumol.* – 2009. - Vol. 45, №9. – P. 459-465.

187. Vaguliene, N. Local and systemic neutrophilic inflammation in patients with lung cancer and chronic obstructive pulmonary disease / N. Vaguliene, M. Zemaitis, S. Lavinskiene, S. Miliauskas, R. Sakalauskas // *BMC Immunol.* – 2013. – Vol. 14. – P. 36.

188. Vogelmeier, C.F. Global Strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of Chronic Obstructive Lung Disease 2017 report / C.F. Vogelmeier, G.J. Criner, F.J. Martinez, et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* – 2017. – Vol. 195, №5. – P. 557-582.

189. Vrlik, M. Asthma bronchial phenotypes and their treatment – a current view / M. Vrlik, M. Dzurilla, M. Bucova, D. Kantarova, M. Buc // *Acta. med. Mart.* 2009. - Vol. 9. №3. – P. 3-11.
190. Wang, J. Endogenous and exogenous IL-6 inhibit aeroallergen-induced Th2 inflammation / J. Wang, R.J. Homer, Q. Chen, J.A. Elias // *J. Immunol.* – 2000. - №165. – P. 4051–4061.
191. Wenzel, S.E. Asthma: defining of the persistent adult phenotypes // *Lancet.* – 2006. - Vol. 368, № 9537. - p. 804-813.
192. Wenzel, S.E. Asthma phenotypes: the evolution from clinical to molecular approaches / S.E. Wenzel // *Nat. Med.* – 2012. – vol. 18. – P. 716-725.
193. Wenzel, S.E. Complex phenotypes in asthma: current definitions / S.E. Wenzel // *Pulm. Pharmacol. Ther.* - 2013. – V. 26 - № 6. – P.710-715.
194. Wenzel, S. Severe asthma: from characteristics to phenotypes / S. Wenzel // *Clin. Immunol.* – 2014. - №133 (5). – P. 1474-1477.
195. Wenzel, S. Severe asthma: from characteristics to phenotypes to endotypes / S. Wenzel // *Clinical and Experimental Allergy.* - 2012. - № 42. - P. 650-658.
196. Wenzel, S. Severe asthma in adults / S. Wenzel // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2005. - №172 (2). - P.149–160
197. Yang, I.A. Inhaled corticosteroids for stable chronic obstructive pulmonary disease / I.A. Yang, M.S. Clarke, E.H. Sim, K.M. Fong // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2012. - №7 // [Электронный ресурс] <https://www.cochranelibrary.com/cdsr/doi/10.1002/14651858.CD002991.pub3/full>
198. Yang, Q.F. Eosinophilic biomarkers for detection of acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease with or without pulmonary embolism / Q.F. Yang, T.T. Lu, C.M. Shu, L.F. Feng, H.T. Chang, Q.Y. Ji // *Exp. Ther. Med.* – 2017. – Vol. 14, №4. – P. 3198-3206.
199. Yu, H.Y. Eosinophil cationic protein mRNA expression in children with bronchial asthma / H.Y. Yu, X.Y. Li, Z.F. Cai, L. Li, X.Z. Shi, H.X. Song, X.J. Liu // *Genet. Mol. Res.* - 2015. – Vol. 14. - №4. – P. 14279-14285.

200. Zeng, Y.Y. Altered serum levels of type I collagen turnover indicators accompanied by IL-6 and IL-8 release in stable COPD / Y.Y. Zeng, W.P. Hu, Y.H. Zuo, X.R. Wang, J. Zhang // *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* – 2019. – Vol. – 14. – P. 163-168.

**ПРИЛОЖЕНИЕ А**

(справочное)

**РЕЗУЛЬТАТЫ ROC-АНАЛИЗА**

Таблица А.1 - Площадь под ROC-кривой для уровня эозинофильного катионного белка

Показатель	Площадь	Стандартная ошибка*	p <sup>**</sup>	95% доверительный интервал	
				нижняя граница	верхняя граница
Уровень ЕСР	0,913	0,028	0,000	0,858	0,969

Примечание:

\* - непараметрические тесты

\*\* - нулевая гипотеза: истинная площадь под кривой = 0,5.

Таблица А.2 - Координаты ROC-кривой для классификации на основании переменной эозинофильного катионного белка

ЕСР	Sensitivity	1 - Specificity	Specificity	Sensitivity- Specificity	Sensitivity+ Specificity
5,69	1,00	1,00	0,00	1,00	1,00
6,79	0,99	1,00	0,00	0,99	0,99
7,02	0,99	0,97	0,03	0,96	1,02
7,27	0,99	0,96	0,04	0,94	1,03
7,44	0,97	0,96	0,04	0,93	1,02
7,72	0,96	0,96	0,04	0,91	1,00
8,03	0,96	0,94	0,06	0,90	1,02
8,19	0,96	0,93	0,07	0,88	1,03
8,27	0,96	0,91	0,09	0,87	1,05
8,40	0,96	0,90	0,10	0,85	1,06
8,57	0,96	0,88	0,12	0,84	1,08
8,77	0,96	0,87	0,13	0,83	1,09
8,98	0,96	0,82	0,18	0,78	1,13
9,17	0,96	0,78	0,22	0,74	1,18
9,31	0,96	0,74	0,27	0,69	1,22
9,36	0,94	0,74	0,27	0,68	1,21
9,38	0,94	0,71	0,29	0,65	1,24
9,48	0,94	0,69	0,31	0,63	1,25
9,58	0,94	0,66	0,34	0,61	1,28
9,61	0,93	0,66	0,34	0,59	1,27
9,66	0,93	0,62	0,38	0,55	1,31

ECP	Sensitivity	1 - Specificity	Specificity	Sensitivity-Specificity	Sensitivity+ Specificity
9,68	0,93	0,57	0,43	0,50	1,36
9,76	0,93	0,54	0,46	0,47	1,39
9,90	0,93	0,52	0,49	0,44	1,41
10,02	0,93	0,47	0,53	0,40	1,46
10,35	0,91	0,47	0,53	0,39	1,44
10,81	0,91	0,44	0,56	0,36	1,47
11,17	0,91	0,41	0,59	0,33	1,50
11,52	0,91	0,38	0,62	0,30	1,53
12,37	0,91	0,34	0,66	0,25	1,58
13,37	0,91	0,31	0,69	0,22	1,61
13,72	0,91	0,28	0,72	0,19	1,64
14,07	0,91	0,24	0,77	0,15	1,68
14,56	0,91	0,21	0,79	0,12	1,71
15,10	0,91	0,19	0,81	0,11	1,72
15,47	0,90	0,19	0,81	0,09	1,71
15,77	0,90	0,15	0,85	0,05	1,75
17,52	0,90	0,13	0,87	0,03	1,77
19,05	0,90	0,12	0,88	0,02	1,78
<b>19,22</b>	<b>0,90</b>	<b>0,10</b>	<b>0,90</b>	<b>0,00</b>	<b>1,80</b>
19,46	0,89	0,10	0,90	0,01	1,78
19,74	0,87	0,10	0,90	0,03	1,77
<b>19,92</b>	<b>0,87</b>	<b>0,07</b>	<b>0,93</b>	<b>0,06</b>	<b>1,80</b>
20,09	0,84	0,07	0,93	0,08	1,77
20,25	0,83	0,07	0,93	0,10	1,76
20,35	0,76	0,07	0,93	0,17	1,68
20,45	0,76	0,04	0,96	0,20	1,71
20,55	0,76	0,03	0,97	0,21	1,73
20,70	0,73	0,03	0,97	0,24	1,70
21,05	0,64	0,03	0,97	0,33	1,61
21,45	0,61	0,03	0,97	0,36	1,59
21,70	0,61	0,00	1,00	0,39	1,61
21,85	0,57	0,00	1,00	0,43	1,57
21,95	0,53	0,00	1,00	0,47	1,53
22,03	0,49	0,00	1,00	0,51	1,49
22,08	0,44	0,00	1,00	0,56	1,44
22,15	0,41	0,00	1,00	0,59	1,41
22,30	0,39	0,00	1,00	0,61	1,39
22,50	0,33	0,00	1,00	0,67	1,33
22,65	0,24	0,00	1,00	0,76	1,24
22,85	0,20	0,00	1,00	0,80	1,20
23,60	0,19	0,00	1,00	0,81	1,19

ЕСР	Sensitivity	1 - Specificity	Specificity	Sensitivity-Specificity	Sensitivity+ Specificity
26,05	0,16	0,00	1,00	0,84	1,16
28,25	0,13	0,00	1,00	0,87	1,13
31,31	0,09	0,00	1,00	0,91	1,09

Примечание:

Sensitivity - чувствительность,

Specificity - специфичность.

Таблица А.3 - Площадь под ROC-кривой для уровня нейтрофильной эластазы

Показатель	Площадь	Стандартная ошибка*	р <sup>**</sup>	95% доверительный интервал	
				нижняя граница	верхняя граница
Уровень НЭ	0,851	0,033	0,000	0,786	0,916

Примечание:

\* - непараметрические тесты

\*\* - нулевая гипотеза: истинная площадь под кривой = 0,5.

Таблица А.4 - Координаты ROC-кривой для классификации на основании переменной нейтрофильной эластазы

НЭ	Sensitivity	1 - Specificity	Specificity	Sensitivity-Specificity	Sensitivity+ Specificity
19,00	1,00	1,00	0,00	1,00	1,00
25,00	1,00	0,99	0,01	0,99	1,01
35,00	1,00	0,84	0,16	0,84	1,16
45,00	0,99	0,80	0,20	0,79	1,19
55,00	0,99	0,73	0,27	0,71	1,26
65,00	0,97	0,60	0,40	0,57	1,37
77,50	0,96	0,51	0,49	0,47	1,44
87,50	0,96	0,50	0,50	0,46	1,46
95,00	0,94	0,43	0,57	0,37	1,51
105,00	0,93	0,43	0,57	0,36	1,50
115,00	0,91	0,30	0,70	0,21	1,61
125,00	0,85	0,26	0,74	0,11	1,60
<b>135,00</b>	<b>0,85</b>	<b>0,23</b>	<b>0,77</b>	<b>0,08</b>	<b>1,62</b>
145,00	0,71	0,20	0,80	0,09	1,51
155,00	0,65	0,19	0,81	0,17	1,46
165,00	0,56	0,11	0,89	0,33	1,45
175,00	0,49	0,10	0,90	0,42	1,39
185,00	0,46	0,09	0,91	0,46	1,37

НЭ	Sensitivity	1 - Specificity	Specificity	Sensitivity-Specificity	Sensitivity+ Specificity
200,00	0,46	0,07	0,93	0,47	1,39
215,00	0,41	0,07	0,93	0,52	1,34
225,00	0,38	0,07	0,93	0,55	1,31
235,00	0,34	0,07	0,93	0,59	1,27
245,00	0,32	0,06	0,94	0,62	1,27
255,00	0,28	0,06	0,94	0,66	1,22
265,00	0,27	0,06	0,94	0,68	1,21
285,00	0,21	0,03	0,97	0,77	1,18
305,00	0,18	0,03	0,97	0,80	1,15
315,00	0,18	0,01	0,99	0,81	1,16
340,00	0,15	0,01	0,99	0,84	1,13
365,00	0,12	0,01	0,99	0,87	1,10
375,00	0,10	0,01	0,99	0,88	1,09
425,00	0,07	0,01	0,99	0,91	1,06
505,00	0,07	0,00	1,00	0,93	1,07
550,00	0,03	0,00	1,00	0,97	1,03
561,00	0,00	0,00	1,00	1,00	1,00

Примечание:

Sensitivity – чувствительность;

Specificity – специфичность

Таблица А.5 - Площадь под ROC-кривой для уровня эозинофилов в индуцированной мокроте

Показатель	Площадь	Стандартная ошибка*	p <sup>**</sup>	95% доверительный интервал	
				нижняя граница	верхняя граница
Уровень ЭозМ	0,870	0,032	0,000	0,808	0,932

Примечание:

\* - непараметрические тесты

\*\* - нулевая гипотеза: истинная площадь под кривой = 0,5.

Таблица А.6 - Координаты ROC-кривой для классификации на основании переменной эозинофилов в индуцированной мокроте

ЭозМ	Sensitivity	1 - Specificity	Specificity	Sensitivity-Specificity	Sensitivity+ Specificity
-1,00	1,00	1,00	0,00	1,00	1,00
0,50	0,94	0,74	0,26	0,68	1,21
1,50	0,84	0,30	0,70	0,15	1,54

2,50	0,83	0,26	0,74	0,09	1,57
<b>3,50</b>	<b>0,83</b>	<b>0,17</b>	<b>0,83</b>	<b>0,00</b>	<b>1,66</b>
4,50	0,79	0,15	0,86	0,07	1,64
5,50	0,63	0,01	0,99	0,36	1,62
6,50	0,56	0,01	0,99	0,43	1,54
8,00	0,53	0,01	0,99	0,46	1,52
9,50	0,49	0,01	0,99	0,50	1,47
10,50	0,34	0,01	0,99	0,64	1,33
11,50	0,27	0,01	0,99	0,72	1,26
12,50	0,21	0,00	1,00	0,79	1,21
14,00	0,13	0,00	1,00	0,87	1,13
15,50	0,07	0,00	1,00	0,93	1,07
19,50	0,03	0,00	1,00	0,97	1,03
24,00	0,00	0,00	1,00	1,00	1,00

Примечание:

Sensitivity – чувствительность;

Specificity – специфичность

Таблица А.7 - Площадь под ROC-кривой для уровня абсолютного значения нейтрофилов в крови

Показатель	Площадь	Стандартная ошибка*	p <sup>**</sup>	95% доверительный интервал	
				нижняя граница	верхняя граница
Уровень НфК абс.	0,842	0,033	0,000	0,777	0,907

Примечание:

\* - непараметрические тесты

\*\* - нулевая гипотеза: истинная площадь под кривой = 0,5.

Таблица А.8 - Координаты ROC-кривой для классификации на основании переменной абсолютного значения нейтрофилов в крови

НфК абс.	Sensitivity	1 - Specificity	Specificity	Sensitivity-Specificity	Sensitivity+ Specificity
0,68	1,00	1,00	0,00	1,00	1,00
1,84	1,00	0,99	0,01	0,99	1,01
2,10	1,00	0,93	0,07	0,93	1,07
2,32	1,00	0,90	0,10	0,90	1,10
2,57	1,00	0,88	0,12	0,88	1,12
2,73	0,94	0,88	0,12	0,83	1,06
2,88	0,94	0,86	0,15	0,80	1,09
3,07	0,94	0,83	0,17	0,77	1,12

НфК абс.	Sensitivity	1 - Specificity	Specificity	Sensitivity-Specificity	Sensitivity+ Specificity
3,24	0,94	0,80	0,20	0,74	1,15
3,37	0,94	0,78	0,22	0,73	1,16
3,50	0,94	0,71	0,29	0,65	1,23
3,65	0,94	0,65	0,35	0,60	1,29
3,81	0,94	0,64	0,36	0,58	1,31
3,94	0,94	0,57	0,44	0,51	1,38
4,03	0,93	0,54	0,46	0,47	1,40
4,15	0,93	0,45	0,55	0,38	1,48
4,25	0,88	0,41	0,59	0,28	1,47
4,35	0,88	0,38	0,62	0,25	1,50
4,50	0,88	0,33	0,67	0,21	1,54
<b>4,65</b>	<b>0,88</b>	<b>0,30</b>	<b>0,70</b>	<b>0,18</b>	<b>1,57</b>
4,75	0,86	0,30	0,70	0,17	1,56
4,95	0,83	0,30	0,70	0,14	1,53
5,14	0,83	0,28	0,73	0,11	1,56
5,19	0,81	0,28	0,73	0,08	1,53
5,25	0,81	0,26	0,74	0,07	1,55
5,33	0,76	0,26	0,74	0,03	1,50
<b>5,38</b>	<b>0,72</b>	<b>0,26</b>	<b>0,74</b>	<b>0,02</b>	<b>1,46</b>
5,55	0,71	0,17	0,83	0,12	1,53
5,80	0,65	0,17	0,83	0,17	1,48
6,00	0,61	0,17	0,83	0,22	1,44
6,15	0,61	0,15	0,86	0,24	1,47
6,22	0,57	0,10	0,90	0,33	1,47
6,27	0,56	0,10	0,90	0,34	1,46
6,35	0,56	0,09	0,91	0,36	1,47
6,50	0,53	0,09	0,91	0,39	1,44
6,70	0,50	0,09	0,91	0,41	1,41
6,85	0,50	0,07	0,93	0,43	1,43
6,92	0,50	0,03	0,97	0,47	1,47
7,07	0,47	0,03	0,97	0,50	1,44
7,25	0,39	0,03	0,97	0,58	1,36
7,45	0,35	0,01	0,99	0,64	1,33
7,65	0,35	0,00	1,00	0,65	1,35
7,90	0,32	0,00	1,00	0,68	1,32
8,25	0,28	0,00	1,00	0,72	1,28
8,45	0,22	0,00	1,00	0,78	1,22
8,65	0,19	0,00	1,00	0,81	1,19
8,90	0,17	0,00	1,00	0,83	1,17
9,22	0,13	0,00	1,00	0,88	1,13
9,62	0,10	0,00	1,00	0,90	1,10

НфК абс.	Sensitivity	1 - Specificity	Specificity	Sensitivity- Specificity	Sensitivity+ Specificity
9,94	0,08	0,00	1,00	0,92	1,08
11,14	0,06	0,00	1,00	0,94	1,06
12,60	0,01	0,00	1,00	0,99	1,01
14,00	0,00	0,00	1,00	1,00	1,00

Примечание:

Sensitivity – чувствительность;

Specificity – специфичность