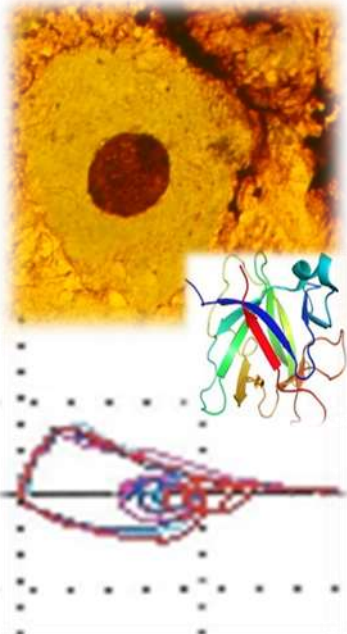




**XIII Всероссийский Конгресс с  
международным участием  
«ПРОФЕССИЯ и ЗДОРОВЬЕ»  
Новосибирск, 23 сентября 2015**

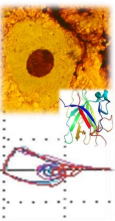


**Новые маркеры  
хронической  
обструктивной болезни  
легких в условиях  
действия разных эколого-  
производственных  
факторов**

**к.м.н. Котова О.С.**

**Новосибирский Государственный  
медицинский университет**

# Биомаркер - определение

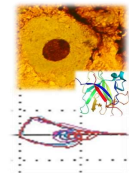


- **Биомаркер – любой клинический признак, результат инструментального, морфологического или лабораторного исследования, который характеризует заболевание и может быть использован для его диагностики, а также мониторинга течения и ответа на терапию**
- **ОФВ1 (ОФВ1/ФЖЕЛ) – маркер диагноза ХОБЛ, но недостаточен для прогноза осложнений, течения болезни, ответа на терапию и исхода**
- **Необходим поиск новых маркеров ХОБЛ**

[1. Shaw J.G. et al., J Thorac Dis 2014;6(11):1532-1547

2. Lock-Johansson S. et al., Respiratory Research 2014, 15:147]

# Маркеры прогрессирования и риска обострений ХОБЛ



- **Классический маркер – снижение ФВД, оцениваемый при спирографии (ОФВ1)**
- **Частые, более 2 раз в год, обострения (ECLIPSE, GOLDE 2011)**
- **Тяжесть эмфиземы, оцененная количественно при КТВР (КТ-денситометрия, индекс эмфиземы) [ECLIPSE, MESA]**
- **Толщина стенки бронхиол и бронхов (КТВР)**
- **Повышение нейтрофилов в мокроте**
- **Повышение эластазы нейтрофилов, IL8, MMP9 мокроты [ECLIPSE, MESA]**
- **Снижение CCL16, витамина D**
- **Повышение фибриногена сыворотки**

[1. Vestbo J et al., Am J Respir Crit Care Med 2014;189:1022-30.

2. Mannino D.M. et al., Chronic Obstr Pulm Dis (Miami). 2015 ; 2(1): 23–34

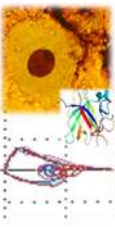
3. Litmanovich DE et al., Radiol Clin North Am 2014;52:137-54.

4. Smith BM et al. Am J Med 2014;127:94,e7-94,23

5. Faner R, et al. Thorax 2014;69:666-72

6. Berg I et al., Respir Med 2013;107:1578-88]

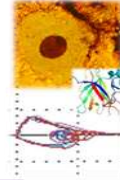
# Маркеры неблагоприятного прогноза ХОБЛ



- **Низкая ОФВ1 к началу терапии**
- **Быстрое снижение ОФВ1**
- **Коморбидность (прежде всего ИБС)**
- **Повышение лейкоцитов периферической крови, фибриногена, CCL18/PARC, SPD, CC16, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , СРБ**

[Zulueta JJ, et al. Chest 2012;141:1216-23  
Baughman P et al. Eur J Epidemiol 2012;27:933-43  
Shaw J.G. et al., J Thorac Dis 2014;6(11):1532-1547  
CelliB.R. et al., Am J Respir Crit Care Med 2012; 185:1065–1072]

# Маркеры формирования ХОБЛ в определенных эколого-производственных условиях



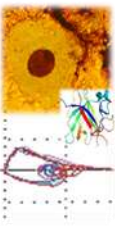
- **На сегодня данные о специфических фенотипах проф ХОБЛ лимитированы**
  - **Преимущественно описаны клинико-функциональные характеристики**
  - **Но четко показана ассоциация течения болезни и характера поллютанта**
- 
- **Известны патогенетические особенности проф ХОБЛ, отличающие ее от ХОБЛ другой этиологии:**
    - **Паттерн воспаления с преимущественной активацией макрофагов и повышением макрофагальных цитокинов (IL1 $\beta$ )**
    - **Гиперкоагуляция**
    - **Эндотелиальная дисфункция**

[1. Шпагина Л.А., Воевода М.И., и др. // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2013. №49. С. 8–15

2. Martinez C.H., Han M.K. // Med Clin North Am. 2012 Jul. Vol. 96(4). P. 713–727.

3. Rodri´guez E., Ferrer J., et al, // PLOS ONE. Feb.2014. Vol. 9. No 2. e88426]

# **Зачем необходим поиск маркеров ХОБЛ, сформировавшейся в результате действия определенных поллютантов**



- **Описание фенотипов ХОБЛ, прогноз течения болезни (ФР хорошо известен), выбор индивидуальной терапевтической тактики**
- **Экспертная работа**

## **Цель работы**

- **Выявить клинико-функциональные и биохимические параметры, характерные для формирования ХОБЛ в определенных эколого-производственных условиях**

# Дизайн

## Одноцентровое наблюдательное когортное исследование в параллельных группах

170 больных ХОБЛ (критерии GOLD 2011)  
фаза ремиссии

### Оценка экзогенного фактора риска

#### Группа 1

**Пыль  
умеренно-  
фиброгенная  
N=55  
Из них курят  
17 (31%)**

#### Группа 2

**Токсический  
фактор  
ароматические  
углеводороды  
N=42  
Из них курят 13  
(32%)**

#### Группа сравнения

**Курение  
N=73**

#### Контроль

**Здоровые  
доноры  
N=62  
Из них  
курят 20  
(32%)**

#### Исключали:

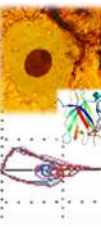
- Другие, кроме ХОБЛ, воспалительные заболевания легких;
- Аллергозы
- Аутоиммунные нарушения
- Онкологические заболевания
- Отсутствие информированного согласия больного
- Активная инфекция на момент исследования
- ХВГ инфекция, ВИЧ

### Оценка потенциальных биомаркеров

Сравнение групп → корреляция биомаркера и ФР → оценка прогностической значимости биомаркера относительно ФР → чувствительность и специфичность

# Дизайн

## Биомаркеры, оцениваемые в рамках исследования



### Клинико-функциональные:

- Клинический фенотип (эмфизематозный, бронхитический, смешанный)
- Частота рецидивов
- Вторичный бронхоспазм
- Одышка – mMRC
- Дыхательная недостаточность – газовый состав крови, E<sub>r</sub>, H<sub>b</sub>, H<sub>t</sub>
- Спирография [ATS/ERS 2005]
- DL<sub>co</sub>
- Эхокардиография



# Дизайн

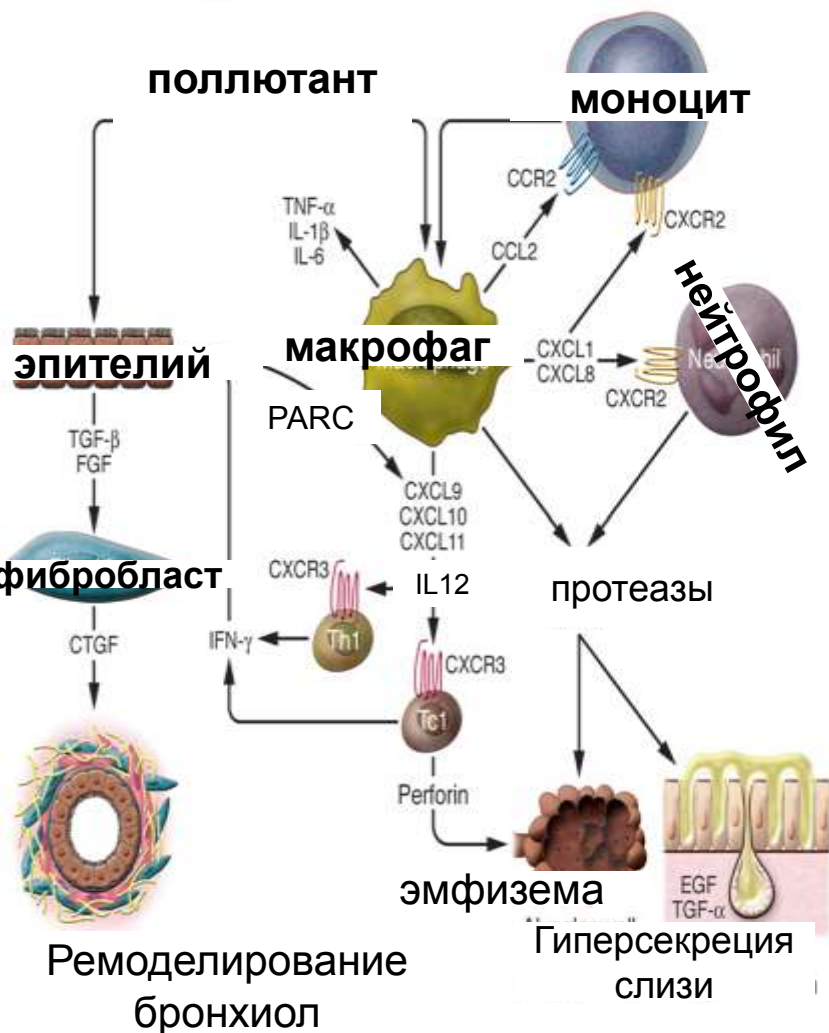
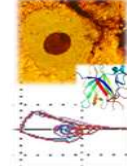
## Биомаркеры, оцениваемые в рамках исследования



### Молекулярные (ELISA):

- Интерлейкин 1бета (IL1 $\beta$ )
- Рецепторный антагонист интерлейкина 1 бета (IL1RA)
- Трансформирующий фактор роста бета ТФР $\beta$
- Легочный хемокин, регулируемый активацией/Хемокин лиганд 18(PARC/CCL18)
- Матриксная металлопротеиназа 7B (MMP7B)
- Фактор роста фибробластов (FGF)
- Интерлейкин 12 (IL12 p40/p70)
- Супероксиддисмутаза3 (SOD3)
- Фактор роста эндотелия сосудов (VEGF)
- Интерлейкин17 (IL17)
- Моноцитарный хемотаксический протеин 1 (MCP1/CCL2\_)

# Биомаркеры, оцениваемые в рамках исследования - обоснование



**1. Макрофагальное воспаление – фенотипический признак проф ХОБЛ [Шпагина Л.А. и соавт, 2013]. Тогда как при ХОБЛ табакокурения клеточный паттерн включает нейтрофилы, Т и В лимфоциты, эозинофилы, и во вторую очередь – макрофаги.**

**Провоспалительные макрофагальные цитокины:**

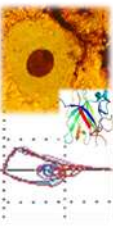
- **Интерлейкин 1бета (IL1β)**
- **Рецепторный антагонист интерлейкина 1 бета (IL1RA) – в норме ограничивает избыточное действие IL1β**
- **Моноцитарный хемотаксический протеин (MCP1/CCL2)**
- **Интерлейкин 12 (IL12 p40/p70)**

[1. Caramori G. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis. 2014; 9: 397–412.

2. Deshmane S.L. et al., J Interferon Cytokine Res. 2009 Jun; 29(6): 313–326:

3. Barnes, P.J. Immunology of asthma and chronic obstructive pulmonary disease. 2008; Nat. Rev. Immunol.: 8:183–192.]

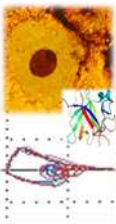
# Биомаркеры, оцениваемые в рамках исследования- обоснование



**ХОБЛ – это ремоделирование бронхиол и легочной паренхимы в результате дисбаланса цитокинов, регулирующих фиброгенез, ангиогенез, а также избыточной деструкции матрикса паренхимы металлопротеиназами и повреждения клеток в результате оксидативного стресса**

- Трансформирующий фактор роста бета ТФРβ
- Фактор роста фибробластов (FGF)
- Матриксная металлопротеиназа 7В (MMP7B)
- Супероксиддисмутаза3 (SOD3)
- Фактор роста эндотелия сосудов (VEGF)

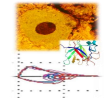
# Биомаркеры, оцениваемые в рамках исследования - обоснование



- **Легочный хемокин, регулируемый активацией/Хемокин лиганд 18 (PARC/CCL18) – фактор стимулирующий активность фибробластов и коллагенообразование. Маркер воспаления легочной ткани (не системного). При ХОБЛ – повышен.**
- **Интерлейкин17 (IL17) – секретируется Th клетками, ассоциирован с аутоиммунными реакциями. Уровень IL 17 при ХОБЛ повышен. Предположительно, при действии разных поллютантов вероятность аутоиммунного компонента в патогенезе ХОБЛ различна**

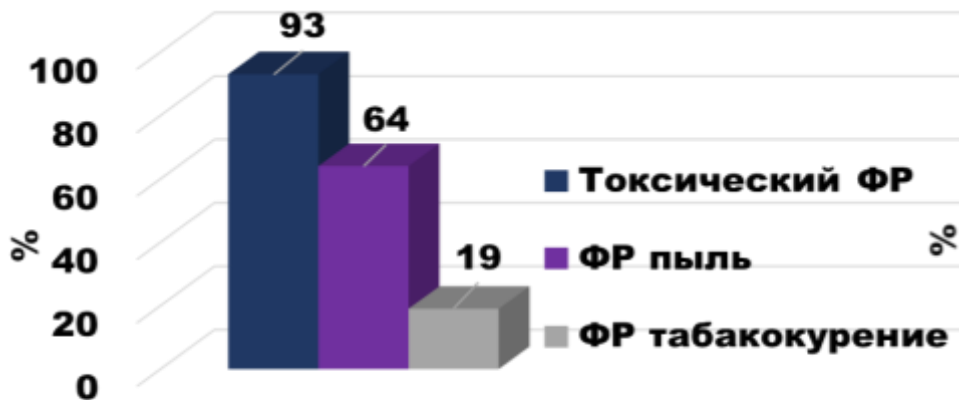
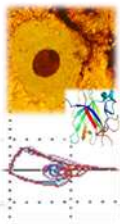
[1.Caramori G. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis. 2014; 9: 397–412.  
Deshmane S.L. et al., J Interferon Cytokine Res. 2009 Jun; 29(6): 313–326  
2.Lee C.G. et al., Proc Am Thorac Soc. 2011; 8:512–515  
3. Sin D.D., Am.J Respir.Crit.Care Med;2011:183:1187 ]

# Характеристика больных



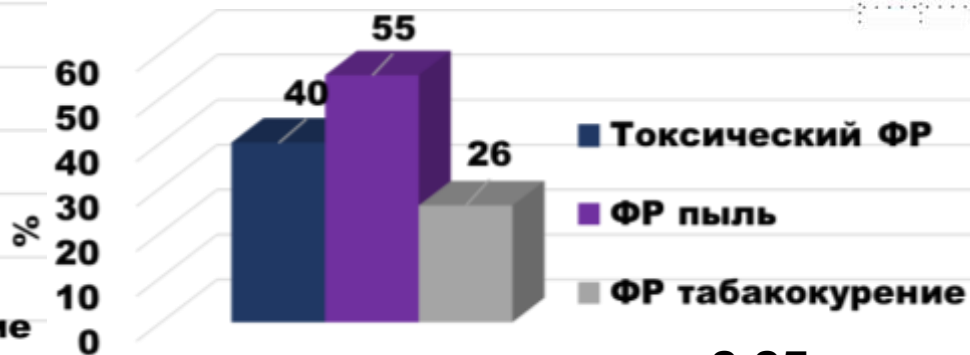
	<b>Токсический фактор</b>	<b>Пыль</b>	<b>Табакокуре ние</b>	<b>Контроль</b>	<b>p</b>
<b>Возраст, лет</b>	<b>64,5±1,39</b>	<b>64,3±1,4</b>	<b>64,2±0,75</b>	<b>58±0,65</b>	<b>0,6</b>
<b>Пол</b>					<b>0,6</b>
<b>мужчин, %</b>	<b>86</b>	<b>91</b>	<b>88</b>	<b>87</b>	
<b>женщин, %</b>	<b>14</b>	<b>9</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	
<b>Длительность действия ФР, лет</b>	<b>25,9±1,60</b>	<b>25,4±1,29</b>	<b>28,3±1,96</b>	<b>-</b>	<b>0,7</b>
<b>Интенсивность действия ФР</b>	<b>Среднесменная концентрация бензола в воздухе рабочей зоны 9.3 ± 0.032 мкг/м3</b>	<b>Среднесменная концентрация пыли 15.1 ± 3.42 мг/м3</b>	<b>Индекс пачка-лет 15 ± 3,26</b>	<b>Индекс пачка-лет 14 ± 2,68</b>	<b>-</b>
<b>Длительность болезни, лет</b>	<b>15,7 ± 1,49</b>	<b>18,5±1,26</b>	<b>13,0 ± 0,87</b>	<b>-</b>	<b>0,7</b>
<b>ОФВ1/ФЖЕЛ,%должн</b>	<b>62,7±1,68</b>	<b>63,3±1,57</b>	<b>61,8±1,19</b>	<b>92±2,15</b>	<b>0,9</b>
<b>Категория ХОБЛ А-В, %</b>	<b>71</b>	<b>68</b>	<b>73</b>	<b>-</b>	<b>0,9</b>
<b>С-D, %</b>	<b>29</b>	<b>32</b>	<b>27</b>		<b>0,9</b>

# Результаты: клинико-функциональные маркеры



Эмфизематозный клинический фенотип

$p = 0,0001$



Вторичная бронхообструкция с клиническими проявлениями

$p = 0,05$



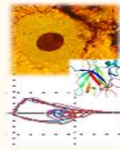
Вторичная бронхообструкция

$p = 0,0002$

Различия достоверны с группой ХОБЛ табакокурения



СДЛА



**p = 0,007**  
**Различия достоверны**  
**с группой ХОБЛ**  
**табакокурения**

ОФВ1%

**p = 0,0001**

**DLco%**

Boxplot by Group  
 Variable: ОФВ1%

□ Mean  
 □ ±SE  
 I ±SD

1 Проф  
 табакокурение  
 2 Проф  
 пыль  
 Проф  
 Токсический  
 ФР

**Динамика ОФВ1% за 3 года**

0 1 2  
 Проф

□ Mean  
 □ ±SE  
 I ±SD

**баллы**



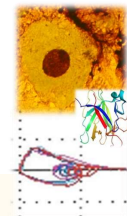
■ Токсический ФР  
 ■ ФР пыль  
 ■ ФР табакокурение

**p = 1,0**

**mMRC**

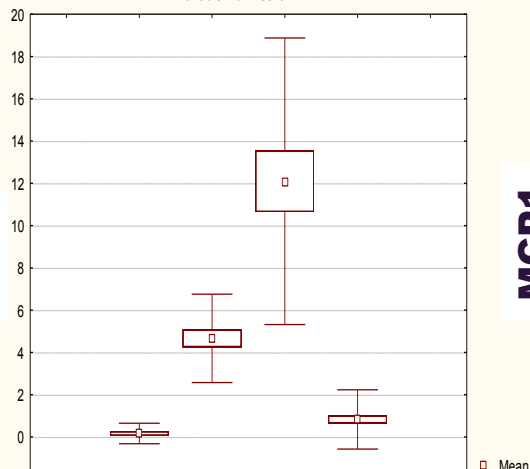
Mean  
 ±SE  
 ±SD

# Результаты: молекулярные маркеры



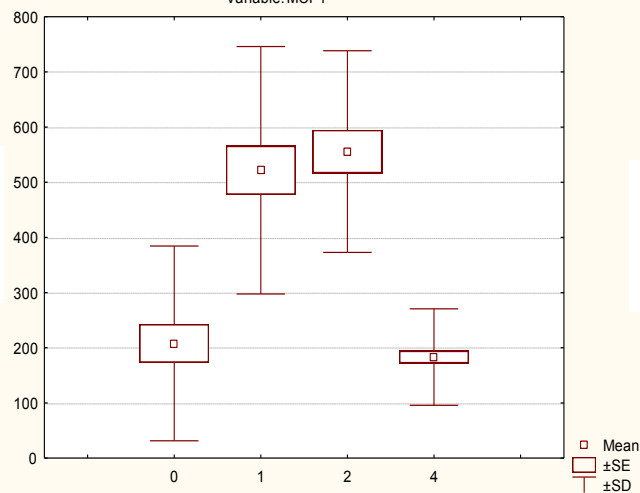
**p = 0,00001**

Boxplot by Group  
Variable: ИЛ1 бета



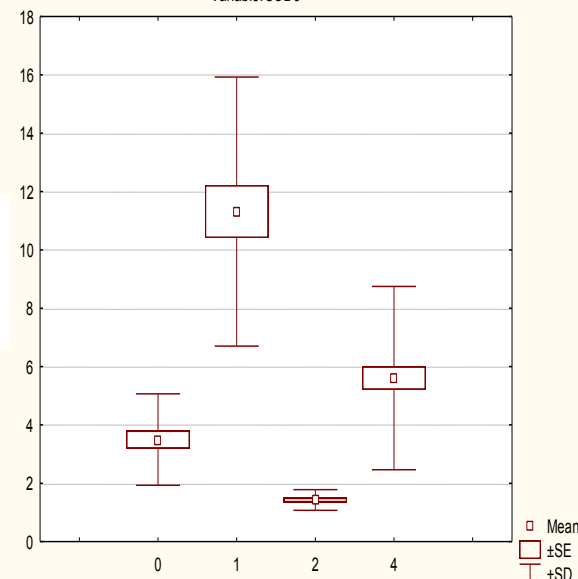
**p = 0,00001**

Boxplot by Group  
Variable: MCP1



**p = 0,00001**

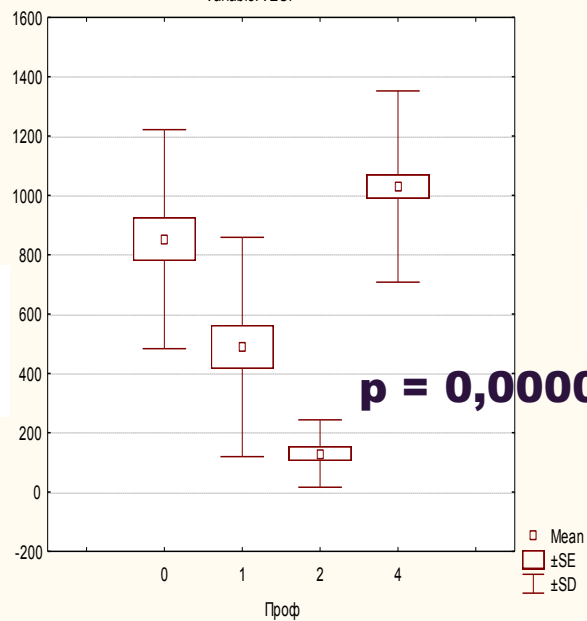
Boxplot by Group  
Variable: SOD3



**MCP1**

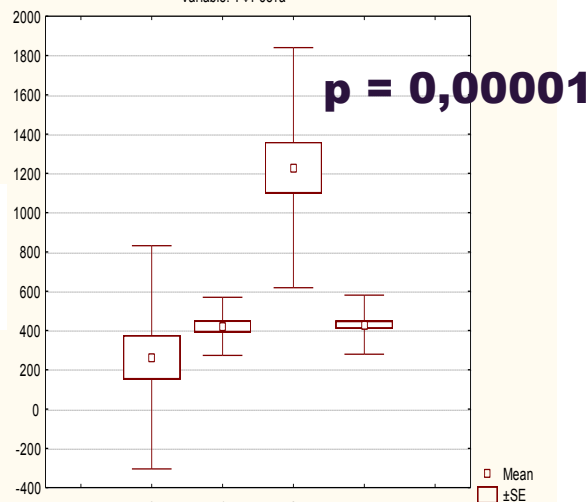
**SOD3**

Boxplot by Group  
Variable: VEGF



**p = 0,00001**

Проф  
Variable: ТФРбета

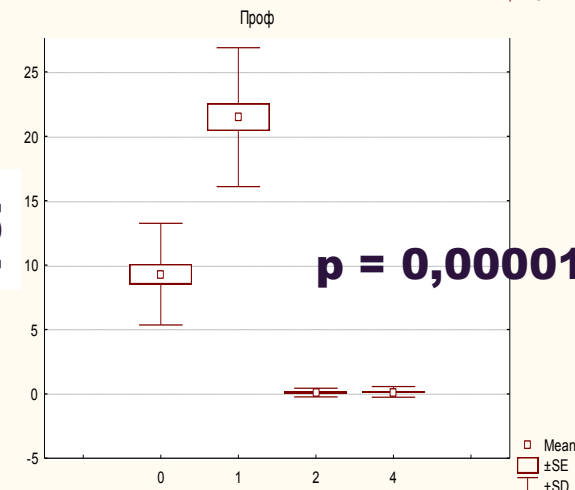


**p = 0,00001**

**TGFβ**

**FGF**

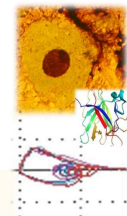
**p = 0,00001**



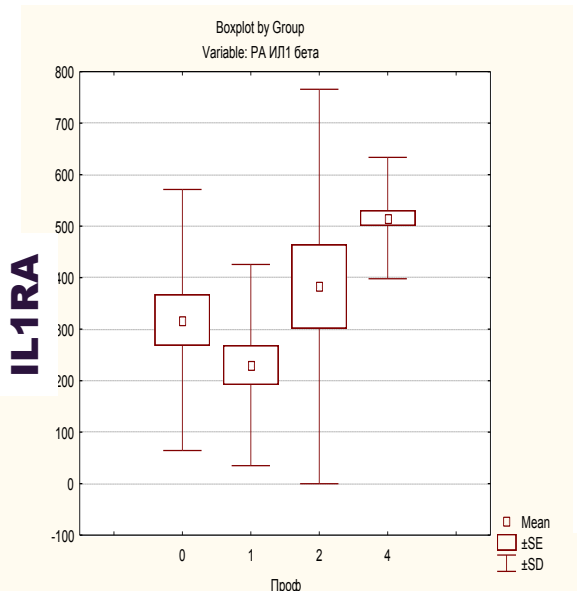
**1- ФР табакокурение, 2- ФР пыль, 3- ФР токсический, 4-контроль**



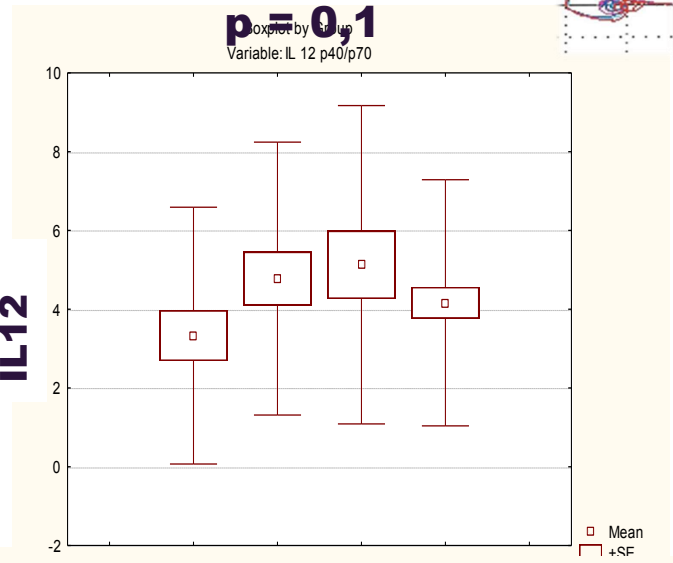
# Результаты: молекулярные маркеры



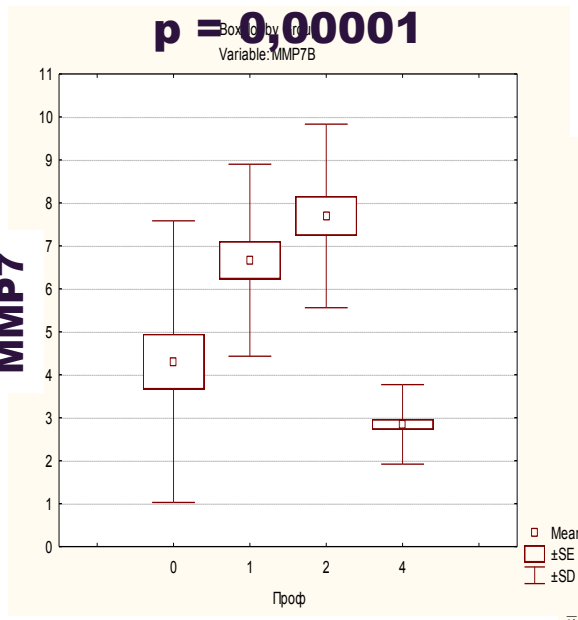
**p = 0,0001**



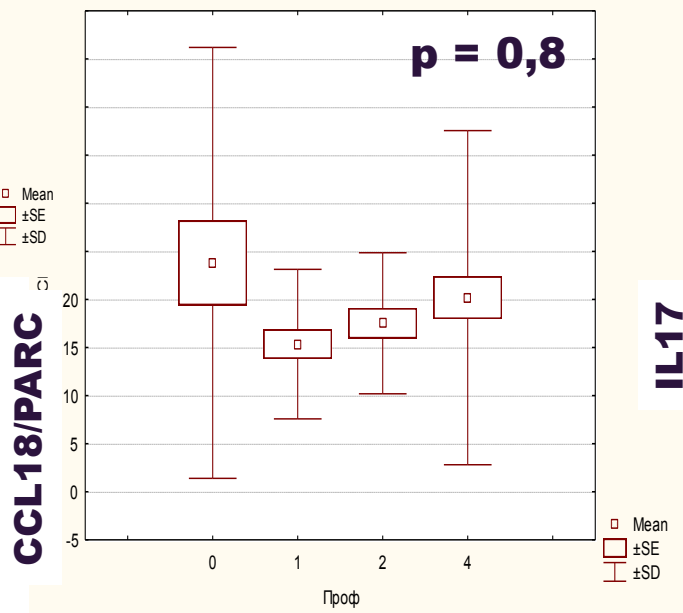
**p = 0,1**



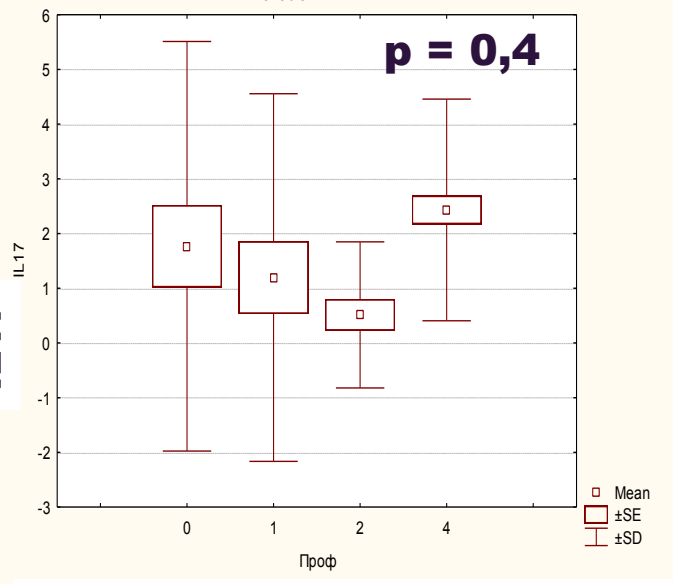
**p = 0,00001**



**p = 0,8**

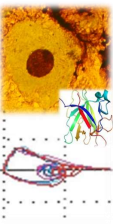


**p = 0,4**

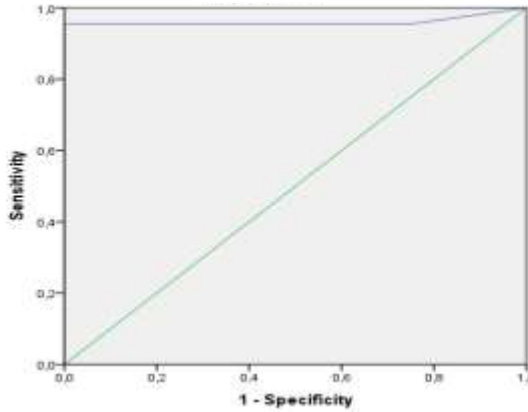


**1-ФР**  
табакокурение,  
**2-ФР** пыль,  
**3-ФР** токсический,  
**4-контроль**

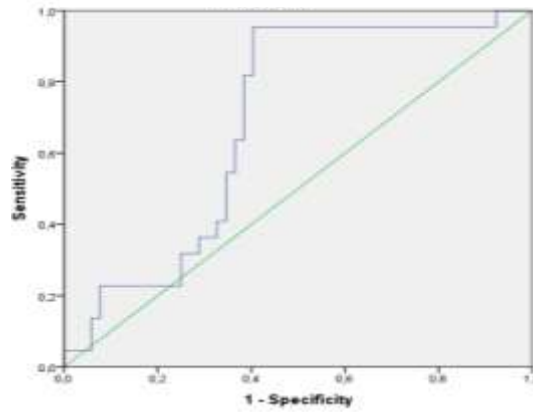
# Результаты: молекулярные маркеры – чувствительность и специфичность относительно токсического ФР



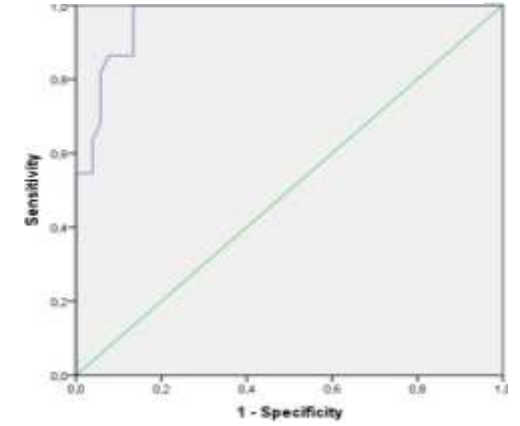
**IL1 $\beta$   $\geq 10,1$  пг/мл**  
**Ч 90%, С100%**



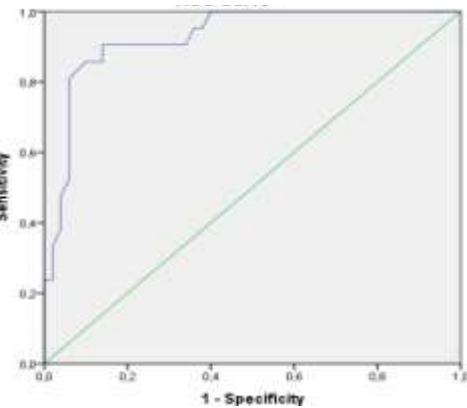
**MCP1  $\geq 515,95$**   
**пг/мл**  
**Ч 55%, С65%**



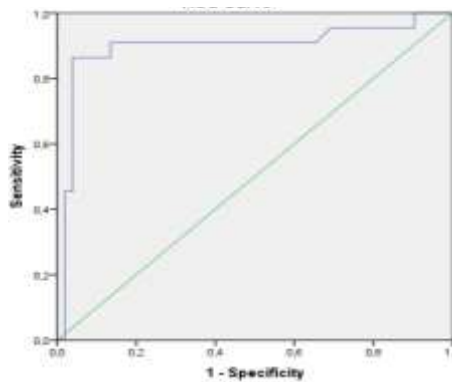
**SOD3  $\leq 1,76$**   
**нг/мл**  
**Ч 77%, С94%**



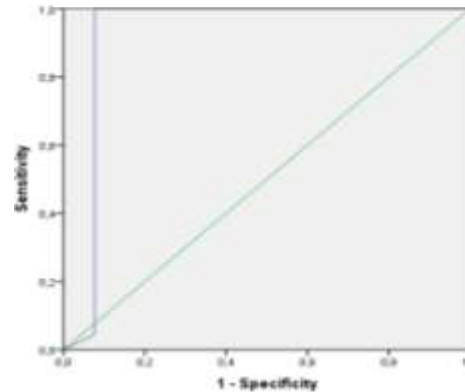
**VEGF  $\leq 176,2$  пг/мл**  
**Ч 81%, С94%**



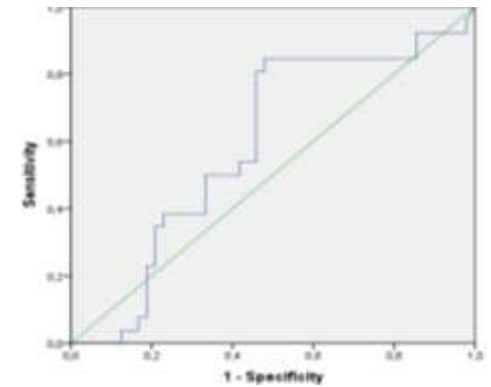
**TGF $\beta$   $\geq 1018$  пг/мл**  
**Ч 73%, С93%**



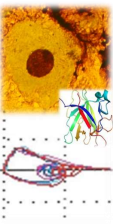
**FGF  $\leq 1,15$  пг/мл**  
**Ч 95%, С92%**



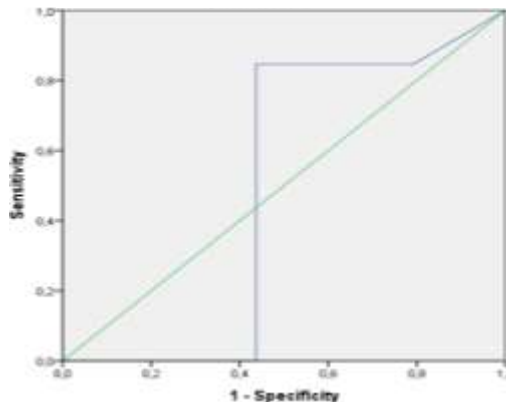
**MMP7  $\geq 7,2$  пг/мл**  
**Ч 54%, С58%**



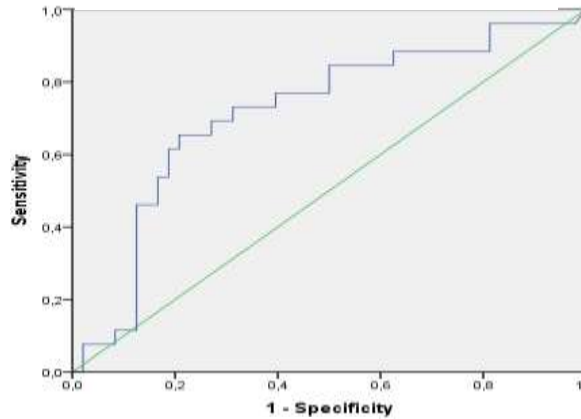
# Результаты: молекулярные маркеры – чувствительность и специфичность относительно ФР пыль



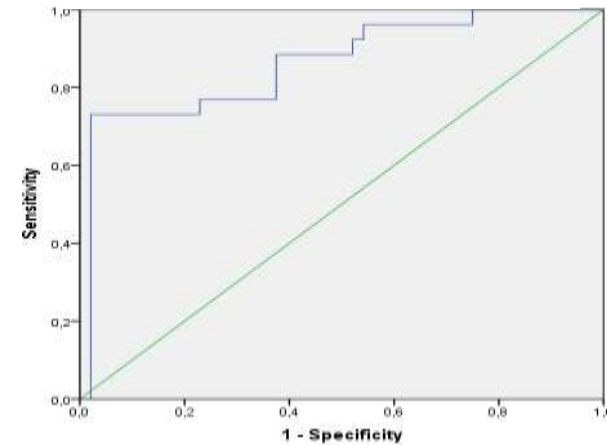
**IL1 $\beta$  площадь под кривой чувствительность-специфичность <0,5**



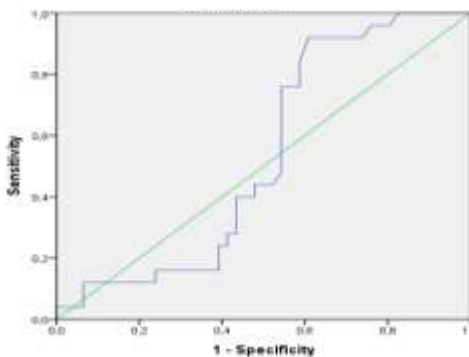
**MCP1 ≥515,95 пг/мл Ч 69%, С73%**



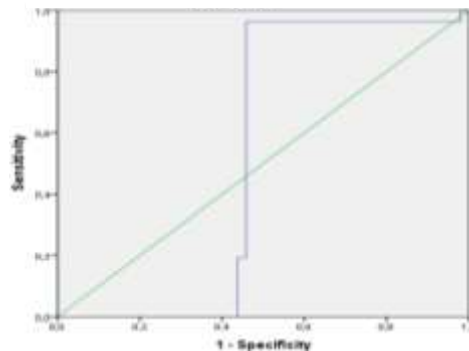
**1,76<SOD3≤10,5 нг/мл Ч 73%, С98%**



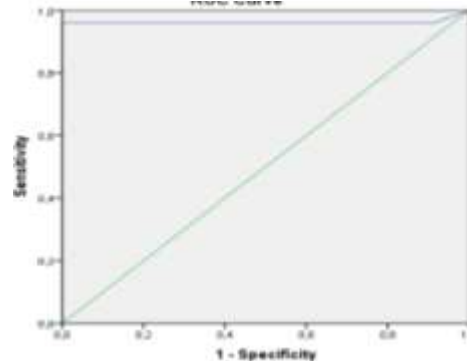
**VEGF площадь под кривой чувствительность-специфичность <0,5**



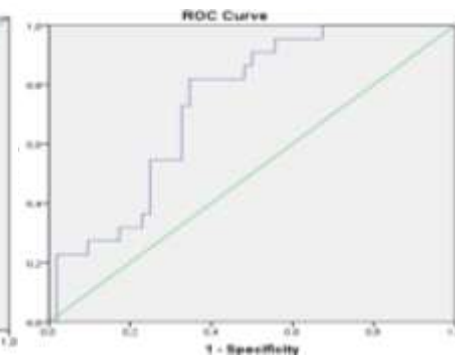
**TGFβ площадь под кривой чувствительность-специфичность <0,5**



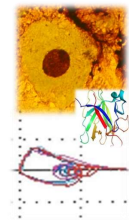
**FGF≥20,3 пг/мл Ч 77%, С100%**



**MMP7 ≥7,25пг/мл Ч 73%, С67%**



# Результаты: молекулярные маркеры



**Дифференцируют группы ХОБЛ с разным ФР**



**IL1 $\beta$ , TGF $\beta$ , FGF, SOD3, VEGF**

**Дифференцируют проф ХОБЛ от ХОБЛ табакокурения**



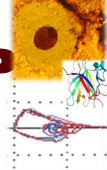
**MCP1, MMP7**

**Дифференцируют ХОБЛ от контроля**



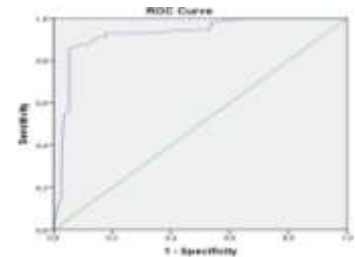
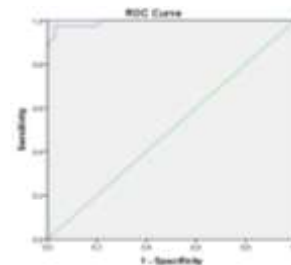
**IL1 $\beta$ , TGF $\beta$ , FGF, SOD3, VEGF, MCP1, MMP7, RAIL1 $\beta$**

# Результаты: прогностическая значимость



## Клинико-функциональные маркеры:

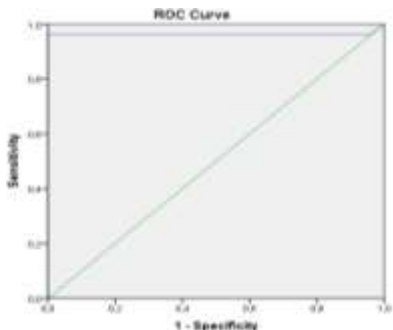
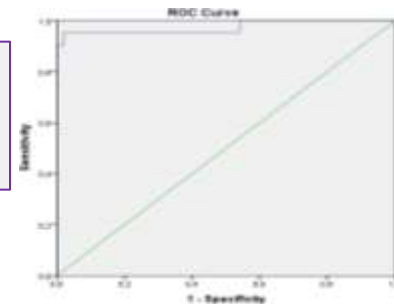
Токсический ФР =  
 $0,2 * (\text{эмфизема}) + 0,04 * \text{DLco}$



ФР пыль =  $0,127 * (\text{бронхообструкция клинически}) - 0,036 * \text{DLco}$

## Молекулярные маркеры:

Токсический ФР =  
 $0,27 * \text{IL1}\beta + 0,00009 * \text{TGF}\beta + 0,0003 * \text{VEGF}$



ФР пыль =  $0,017 * \text{IL1}\beta + 0,045 * \text{FGF}$

# **Выводы:**

**Для ХОБЛ, сформировавшейся в условиях действия токсического ФР, характерны:**

**Формирование клинически выраженной эмфиземы (93%)  
Медленное снижение ОФВ1 ( $4,7\% \pm 51\%$ ) за 3 года  
Формирование ЛАГ  
Повышение IL1 $\beta$   $\geq 10,1$  пг/мл, снижение SOD3  $\leq 1,76$  нг/мл,  
снижение VEGF  $\leq 176,2$  пг/мл, повышение TGF $\beta$   $\geq 1018$  пг/мл,  
снижение FGF  $\leq 1,15$  пг/мл**

**Для ХОБЛ, сформировавшейся в условиях действия пыли, характерны:**

**Вторичная бронхообструкция с клиническими проявлениями (55%)  
Сниженная D<sub>lco</sub> ( $67 \pm 0,5\%$ )  
 $1,76 < SOD3 \leq 10,5$  нг/мл, повышение FGF  $\leq 1,15$  пг/мл**

**Для обеих групп проф ХОБЛ характерны:**

**Вторичная бронхообструкция  
Меньше тяжесть ограничения воздушного потока  
Медленное снижение ОФВ1  
Повышение MСР и MМР7**