

На правах рукописи

**Бекетов
Владимир Дмитриевич**

**КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СЕРОЛОГИЧЕСКИХ
БИОМАРКЕРОВ SP-A, SP-D в ДИАГНОСТИКЕ САРКОИДОЗА и
ИДИОПАТИЧЕСКОГО ЛЕГОЧНОГО ФИБРОЗА**

14.01.04 – внутренние болезни

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2017

Работа выполнена в « МГУ им. М.В. Ломоносова».

Научный руководитель:

Д.м.н., профессор, заведующий
кафедрой внутренних болезней
факультета фундаментальной
медицины академик РАН

Мухин Николай Алексеевич

Официальные оппоненты:

Д.м.н., профессор, заведующий
кафедрой внутренних
болезней XXXXXXXXXXXXX

XXXXXXXXXXXXXXXXXX

Д.м.н., доцент, профессор
кафедры XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

XXXXXXXXXXXXXXXXXX

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное XXXXXX учреждение XXXXXXX
Защита состоится « » 201... года в на заседании диссертационного
совета при ФГАОУ ВПО «XXXXXXXXXX» (11XXXX, г. Москва, ул.
.....).

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке Российского
университета дружбы народов (117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6).

Автореферат разослан «__» _____201... года.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор

Х..... Х.Х.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

Интерстициальные болезни легких (ИБЛ) широко распространены среди лиц, прежде всего, трудоспособного возраста. Эта гетерогенная группа заболеваний представлена идиопатическим легочным фиброзом, экзогенным фиброзирующим альвеолитом, саркоидозом, гистиоцитозом Х, альвеолярным протеинозом, некротизирующими легочными васкулитами в рамках системных заболеваний [Чучалин А.Г., 2016, Авдеев С.Н., 2015, Илькович М.М., 2014, Шмелев Е.И., 2003, Ramachandraiah V. et al, 2017]. Клинической особенностью, объединяющей эти нозологии, является их хроническое прогрессирующее течение с достаточно быстрым формированием дыхательной недостаточности. Морфологическим субстратом прогрессирования является воспаление, охватывающее различные структурные элементы респираторного тракта, легочного интерстиция, что в итоге приводит к формированию легочного фиброза и дыхательной недостаточности. Эпидемиологической особенностью ИБЛ является их поздняя диагностика, как правило, на стадиях активного распространенного воспаления и дебюта необратимого фиброзирующего процесса, с достаточно быстрым развитием терминального фиброза, сопровождающегося вторичной легочной гипертензией, дыхательной недостаточностью высоких градаций, что нередко определяет необходимость трансплантации легких [Овчаренко С.И., 2004, Визель А.А., 2016, Цветкова О.А., 2017].

Сложность оценки активности ИБЛ объясняется скудностью клинической картины в начальной стадии заболевания, на которой отсутствуют как рентгенологические, так и лабораторные характерные маркеры активности процесса, отсутствием патогномичных признаков для развернутых, прогрессирующих стадий. Это во многом является результатом до конца не изученного патогенеза процессов фиброзирования, механизмов трансформации острых форм альвеолитов в хронические.

В настоящее время считается, что инициальным звеном ИБЛ является альвеолит, ряд механизмов способствует хроническому течению воспаления в альвеолоцитах, активации воспалительно-склеротических реакций в интерстиции лёгкого, что приводит к развитию и прогрессированию фиброза, терминальному ремоделированию легочной ткани с формированием деструктивного пневмофиброза с формированием дыхательной недостаточности [Чучалин А.Г., 2016].

Данные об участии медиаторов альвеолярного происхождения в прогрессировании ИБЛ носят несистематизированный характер. По-прежнему остается открытым

вопрос о роли факторов, контролирующих альвеолит, в развитии воспаления и фиброза. Вклад биологических маркеров альвеолита и фиброза с клиническими и рентгенологическими параметрами прогрессирования заболеваний лёгких на различных стадиях ИБЛ остаётся до конца неясным.

Уточнение значения маркёров альвеолита и фиброза в прогрессировании ИБЛ является актуальным, т.к. позволит раскрыть новые перспективы в лечении этих заболеваний и оценке их прогноза.

Цель

Оценить клиническое значение биомаркеров SP-A и SP-D в оценке активности идиопатического легочного фиброза и саркоидоза лёгких.

Задачи

1. У больных с различными вариантами ИБЛ исследовать содержание в крови маркёров повреждения легочной ткани сурфактантных протеинов А (SP-A) и D (SP-D).
2. Изучить соотношение SP-A и SP-D с рентгенологическими и морфологическими стадиями ИЛФ и саркоидоза.
3. Выделить особенности изменения активности ангиотензин превращающего фермента (АПФ) в крови у больных ИЛФ и саркоидозом.
4. Провести сопоставление уровней SP-A и SP-D с активностью АПФ в крови больных ИЛФ и саркоидозом.
5. Определить влияние внелегочных поражений на течение ИЛФ, саркоидоза и соотнести полученные данные с показателями биомаркеров SP-A и SP-D.

Научная новизна

На разных морфологических стадиях ИБЛ изучены клинико-лабораторные особенности альвеолита и прогрессирующего легочного фиброза.

Установлено соотношение сурфактантных протеинов А и D с рентгенологическими и морфологическими стадиями ИЛФ и саркоидоза.

Проведено сопоставление уровней SP-A и SP-D с активностью АПФ в крови больных ИЛФ и саркоидозом.

Обосновано применение маркёров повреждения альвеолоцитов в качестве критериев для определения активности ИЛФ, саркоидоза риска прогрессирования легочного фиброза.

Выявлены особенности изменения серологических показателей SP-A и SP-D в зависимости от наличия внелегочных поражений у больных ИЛФ и саркоидозом.

Практическая значимость

Установлено, что концентрации SP-A и SP-D в крови отражают наличие активности воспалительного процесса (альвеолита) и риск развития и прогрессирования фиброза лёгких у больных ИЛФ и саркоидозом.

На основании полученных результатов показано значение сурфактантных протеинов А и D для оценки прогноза течения ИЛФ и саркоидоза, в том числе с учетом рентгенологических стадий заболеваний.

Серологические показатели SP-A и SP-D могут быть включены в комплексное, в том числе динамическое обследование больных ИБЛ с целью прогнозирования развития дыхательной недостаточности.

Положения, выносимые на защиту

- 1.** У больных ИЛФ и саркоидозом выявляется повышение сывороточных значений сурфактантных протеинов А и D.
- 2.** Выраженность респираторной дисфункции нарастает по мере прогрессирования фиброза и отражается изменением сывороточных показателей SP-A, SP-D, выявленные корреляции между сурфактантными протеинами и активностью АПФ отражают активность гранулематозного воспаления у больных саркоидозом, не страдающих АГ.
- 3.** Установлена зависимость между наличием активности ИБЛ (по данным компьютерного томографического, морфологического исследования) и концентрациями в крови SP-A, SP-D.
- 4.** Выявлены корреляции между наличием внелегочных поражений и активностью альвеолита, риском прогрессирования легочного фиброза.

Апробация работы

Апробация работы состоялась 2017 г. на совместном заседании кафедры внутренних болезней ФФМ МГУ имени М.В. Ломоносова и кафедры внутренних, профессиональных болезней и пульмонологии МПФ Первого МГМУ им. И.М. Сеченова и врачей УКБ №3 (Клиника нефрологии, внутренних и профессиональных заболеваний им. Е. М. Тареева).

Личный вклад автора

Вклад автора заключается в непосредственном участии на всех этапах исследования от постановки задач, их теоретической и практической реализации до обсуждения результатов в научных публикациях и их внедрения в практику.

Внедрение в практику

Результаты используются в работе пульмонологического, ревматологического и терапевтического отделений УКБ №3 Первого МГМУ им. И. М. Сеченова, в учебном процессе на кафедре внутренних болезней МГУ им. М. В. Ломоносова.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 6 печатных работ, в том числе 6 в журналах, рекомендованных ВАК.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 148 страницах печатного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственного исследования, их обсуждения, выводов и практических рекомендаций, содержит 61 таблицу, 21 рисунок. Список литературы содержит 278 источников, из них 78 отечественных.

База проведения

Клиническое исследование проводилось на базе кафедры внутренних болезней факультета фундаментальной медицины МГУ имени М.В. Ломоносова в клинике нефрологии, внутренних и профессиональных болезней им. Е.М. Тареева УКБ №3 ПМГМУ им. И.М. Сеченова (заведующий кафедрой и директор клиники – академик РАН, д.м.н., профессор Н.А. Мухин).

Автор выражает искреннюю благодарность научному руководителю академику Н.А. Мухину, проф. С.В. Моисееву, проф. Поповой Е.Н., проф. Л.А. Стрижакову, доц. Т.Н. Красновой, доц. М.В. Тарановой, доц. С.В. Гуляеву, доц. Лебедевой М.В., асс.

В.В. Краевой, асс. И.Б. Бондаренко и главному врачу клиники В.В. Панасюку и коллективу врачей клиники нефрологии, внутренних и профессиональных болезней им. Е.М. Тареева.

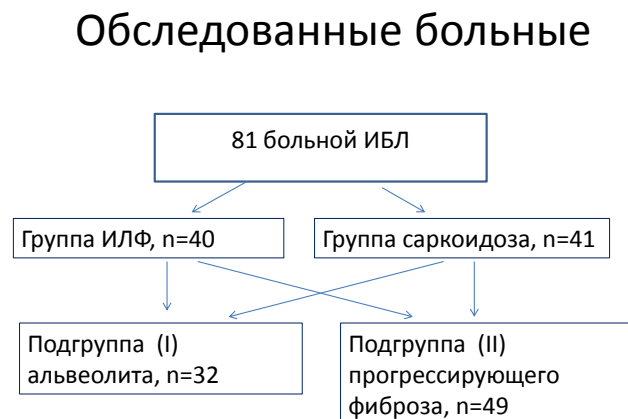
СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Материал и методы исследования

1. Характеристика больных

В исследование включен 81 пациент с интерстициальными болезнями легких: 28 мужчин и 52 женщин в возрасте от 23 до 73 лет, средний возраст составил $48,5 \pm 14,6$ лет. 40 с идиопатическим легочным фиброзом - ИЛФ, 41 с саркоидозом. Контрольную группу составили 20 человек, сопоставимые по возрасту ($45,1 \pm 15,1$ лет) с обследованными пациентами, проходившими диспансерное обследование и признанные здоровыми. Были сформированы 2 группы: 1-я – больные ИЛФ, 2-я – больные саркоидозом, из которых выделены две подгруппы: I – больные с альвеолитом, II – с прогрессирующим легочным фиброзом (рис.1)

Рисунок 1. Распределение больных по группам и подгруппам (n=81)



Диагноз ИБЛ определяли в соответствии с диагностическими критериями: для ИЛФ – согласно федеральным клиническим рекомендациям; для саркоидоза - согласно федеральным согласительным клиническим рекомендациям.

2. Клинико-лабораторные и специальные методы обследования

Клиническое обследование пациентов проходило по стандартному для терапевтического и пульмонологического отделений плану, включавшему в себя общий и биохимический анализ крови, общий анализ мочи, респираторные и функциональные тесты.

Определение сывороточных сурфактантных белков в сыворотке крови было выполнено у 81 пациента и 20 лиц контрольной группы.

Для определения содержания сывороточных сурфактантных белков использовались коммерческие наборы для ИФА. Концентрации определялись по протоколу производителя в ЭДТА-стабилизированной плазме, полученной стандартным способом согласно требованиям протокола производителя. Образцы наносились на планшеты в 3-х повторениях, расчеты проводились с использованием средних значений. Статистическая обработка полученных данных проводилась в программе STATISTICA Advanced http://statsoft.ru/products/STATISTICA_Advanced/.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Клиническая характеристика обследованных больных

Согласно целям и задачам нашего исследования нами был обследован 81 пациент: 28 мужчин и 52 женщины в возрасте от 23 до 73 лет, средний возраст составил 46 ± 14 лет. У 43 пациентов – лимитированная форма, у 13 пациентов – диффузная форма системной склеродермии. Средняя длительность заболевания составила $10,7 \pm 7,5$ лет. Клиническая характеристика обследованных больных представлена в таблице 1. Данные группы сравнимы по возрасту, гендерному составу, конституциональным особенностям, длительности заболевания.

Таблица 1

Клинические проявления у обследованных больных (n=81)

Параметры	Группа ИЛФ, n=40	Группа саркоидоза, n=41	p
Одышка	40 (100,0%)	26 (63,0%)	<0,05
Кашель	38 (95,0 %)	39 (95,0%)	>0,05

Астенический синдром	40 (100,0%)	15 (37,0%)	<0,05
Крепитация	36 (90,0%)	37 (85,0%)	>0,05
Внелегочные проявления	21 (53,0%)	33 (80,0%)	<0,05
Суставной синдром	19 (48,0%)	12 (29,0%)	<0,05
Легочная гипертензия	11(27,5%)	2 (4,9%)	<0,05
альвеолит	25 (62,5%)	13 (31,7%)	<0,025
фиброз легких $\geq 21\%$	15 (37,5%)	14(34,1%)	>0,100
прирост фиброза легких $\geq 20\%$ за 12 мес	27 (67,5%)	2(4,9%)	>0,100

Сопоставление рентгенологических и морфологических признаков ИБЛ в группах больных ИЛФ и саркоидозом показало отсутствие различий между группами по показателю фиброза. Только анализ прироста площади фиброза более 20% за 12 месяцев наблюдения дал достоверные различия между группами больных ИЛФ и саркоидоза. В обеих группах отмечали проявления, характерные как для ранних, так и для поздних стадий ИБЛ, что уменьшало различия между группами (таблица 2). В связи с этим были выделены подгруппы по признаку наличия воспаления – альвеолита (подгруппа I) и по признаку наличия выраженного фиброза (подгруппа II).

Таблица 2

Сопоставление рентгенологических и морфологических проявлений (признаков) в группах обследованных больных (n=81)

Морфологические признаки	Группа ИЛФ, чел	Группа саркоидоза, чел	p
лимфогистиоцитарная инфильтрация интерстиция, в межальвеолярных перегородках	19	20	>0,100
лимфогистиоцитарная инфильтрация интерстиция, межальвеолярных перегородок с формированием «созревающих» гранулем	0	20	не сравнивались

отек	19	20	>0,100
начальные явления фиброза интерстиция *	19	17	>0,100
выраженный фиброз интерстиция	21	20	>0,100
формирование структур «сотового легкого»	7	1	<0,001
«зрелые», фиброзированные гранулемы	0	19	не сравнивались

*начальные явления фиброза сочетались с лимфогистиоцитарной инфильтрацией интерстиция и в межальвеолярных перегородках

Отсутствие признаков гранулематозного воспаления в группе ИЛФ в силу диагностических морфологических критериев объясняло исключение проведения сравнение групп по этому параметру.

Сравнение рентгенологических и морфологических признаков в подгруппах I и II показало наличие достоверных различий по всем сопоставляемым параметрам (таблица 3).

Таблица 3

Частота встречаемости рентгенологических признаков в подгруппах больных (n=81)

Рентгенологические признаки	Подгруппа альвеолита (n=32)	Подгруппа прогрессирующего фиброза (n=49)	p*
«матовое стекло»	32 (100,0%)	0 (0,0%)	<0,001
«матовое стекло» +фиброз легких>30%	0 (0,0%)	3 (6%)	<0,001
«матовое стекло» + фиброз легких < 20%	29 (91,0%)	0 (0,0%)	<0,001
фиброз легких 21-49%	0 (0,0%)	33 (80,0%)	<0,001
фиброз легких > 50%	0 (0,0%)	6 (15,0%)	<0,001
«сотовое легкое»	0 (0,0%)	14 (35,0%)	<0,001

После выделения подгрупп была пересмотрена частота ЛГ в подгруппах альвеолита и прогрессирующего фиброза. Оказалось, что в подгруппе больных с альвеолитом (I) ЛГ не регистрировалась, тогда как в подгруппе пациентов с прогрессирующим фиброзом (II) ее частота составила 26,6%. Чаще отмечали ЛГ I степени, чем II – 18,4% против 8,2% (таблица 4).

Таблица 4

Частота легочной гипертензии у обследованных больных (n=81)

Группа больных	Легочная гипертензия		
	есть		
Подгруппа I (альвеолит) (n=32)	0 (0,0%)		32 (100,0%)
	1-я степень	2-я степень	
	0 (0,0%)	0 (0,0%)	
Подгруппа II (прогрессирующий фиброз) (n=49)	13 (26,6%)		36 (73,6%)
	1-я степень	2-я степень	
	9 (18,4%)	4 (8,2%)	

Сравнение функциональных респираторных показателей в I и II подгруппах больных также показало более существенные достоверные отличия. В подгруппе прогрессирующего фиброза все параметры были значительно ниже, чем в подгруппе альвеолита (таблица 5).

Таблица 5

Сравнение функциональных респираторных показателей в I и II группах (n=81) (метод Kolmogorov-Smirnov) (n=81)

Показатель	Группа I (альвеолит), n=32 Среднее ± СТО	Группа II (прогр. фиброз), n=49 Среднее ± СТО	p
mMRC, баллы	1,3±0,4	2,9±1,2	<0,001
6 MIN, м	402,0±80,3	271,2±129,3	<0,005
DLco,%	81,2±9,3	62,7±15,6	<0,005

SatO ₂ ,%	97,4±0,7	93,2±0,8	<0,005
----------------------	----------	----------	--------

СТО – среднее стандартное отклонение

Оценка лабораторных показателей

Показатели сурфактантных протеинов А и D были достоверно повышены в группах больных ИЛФ и саркоидозом по сравнению с контролем ($p < 0,001$). Не получено достоверных различий при сравнении показателей SP-A и SP-D между группами ИЛФ и саркоидозом ($p > 0,100$) (таблицы 6, 7).

Таблица 6

Показатели сурфактантных белков в крови у обследованных лиц, (n=101)

Показатель	Среднее значение	Доверительный интервал среднего	Ошибка среднего	Стандартное отклонение	p
Группа больных с ИЛФ, n=40					
SP-A, нг/мл [#]	232,0	210,0 – 253,9	10,9	68,7	* $>0,100$ ** $<0,001$
SP-D, нг/мл ^{##}	203,9	181,0 – 226,8	11,3	71,7	* $>0,100$ ** $<0,001$
Группа больных с саркоидозом, n=41					
SP-A, нг/мл	199,0	174,8 – 223,2	12,0	76,8	* $>0,100$ *** $<0,001$
SP-D, нг/мл	193,9	176,9 – 210,9	8,4	53,8	* $>0,100$ *** $<0,001$
Группа контроля, n=20					
SP-A, нг/мл	49,2	38,2 – 60,2	5,2	23,5	** $<0,001$ *** $<0,001$
SP-D, нг/мл	70,7	58,0 – 83,3	6,0	27,2	** $<0,001$ *** $<0,001$

[#] референсные значения SP-A крови для здоровых лиц старше 18 лет: до 100 нг/мл

^{##} референсные значения SP-D крови для здоровых лиц старше 18 лет: до 100 нг/мл

*различия между группой ИЛФ и группой саркоидоза

**различия между группой ИЛФ и контролем,

***различия между группой саркоидоза и контролем

Таблица 7

Сравнение сывороточных показателей сурфактантных протеинов SP-A и SP-D у больных ИЛФ и саркоидозом (метод Kolmogorov-Smirnov) (n=101)

Показатель	Группа ИЛФ (n=40) Среднее ± СТО	Группа саркоидоза (n=41) Среднее ± СТО	Группа контроля (n=20) Среднее ± СТО	p
SP-A, нг/мл	232,0±68,7	199,0±76,8	49,2±23,5	*>0,100 **<0,001
SP-D, нг/мл	203,9±71,7	193,0±33,8	70,7±27,2	*>0,100 **<0,001

*различия между группой ИЛФ и группой саркоидоза

**различия между группами ИЛФ, саркоидоза и контролем

Установлено достоверное различие показателей SP-A и SP-D в каждой из подгрупп обследованных больных по сравнению с контрольной группой ($p < 0,001$). Получены достоверные различия в показателях сурфактантных протеинов А и D при сравнении показателей в I и II подгруппах ($p < 0,001$) (таблица 8).

Таблица 8

Сравнение сывороточных показателей сурфактантных протеинов SP-A и SP-D в подгруппах I и II (метод Kolmogorov-Smirnov) (n=101)

Показатель	Подгруппа I (альвеолит), n=32 Среднее ± СТО	Подгруппа II (прогр. фиброз), n=49 Среднее ± СТО	Группа контроля, n=20 Среднее ± СТО	p
SP-A, нг/мл	281,0±79,3	161,6±58,2	49,2±23,5	*<0,001 **<0,001
SP-D, нг/мл	149,2±51,2	293,4±69,4	70,7±27,2	*<0,001 **<0,001

*различия между подгруппами I и II

**различия между подгруппами I, II и контролем

Корреляционный анализ полученных результатов

Корреляционный анализ полученных результатов проводился по методике сравнения коэффициентов корреляции по Spearman, Gamma и Kendall. В соответствии с поставленными задачами оценке подвергались сурфактантные белки А и D.

Таблица 9

Корреляционный анализ сурфактантных белков SP-A, SP-D у обследованных лиц, n=101, p < 0,05

корреляции	Группа ИЛФ			Группа саркоидоза			Группа контроля		
	по Spearman	по Gamma	по Kendall	по Spearman	по Gamma	по Kendall	по Spearman	по Gamma	по Kendall
SP-A – внелегочные проявления	0,87	0,99	0,73	†	†	†	†	†	†
SP-A – суставной синдром	0,87	0,99	0,74	0,70	0,87	0,57	†	†	†
SP-A – степень одышки (mMRC)	0,70	0,76	0,70	0,55	0,61	0,46	0,63	0,91	0,53
SP-D – степень одышки (mMRC)	0,81	0,83	0,70	0,31	0,33	0,25	0,48	0,70	0,40
SP-D – насыщение кислорода	-0,8	-0,78	-0,61	-0,59	-0,58	-0,48	-0,81	-0,81	-0,66
SP-D – насыщение кислорода (нормализованное значение показателя насыщения)	0,40	0,93	0,34	0,48	0,84	0,40	†	†	†
SP-A – насыщение кислорода (нормализованное значение показателя насыщения)	0,32	0,64	0,27	0,56	0,98	0,47	†	†	†
SP-D - DLco	-0,75	-0,57	-0,57	-0,27	-0,23	-0,22	-0,71	-0,56	-0,53
SP-A – легочный фиброз > 50%	0,48	0,70	0,41	†	†	†	†	†	†
SP-A – рентгенологический симптом «матового стекла»	0,39	0,49	0,33	0,58	0,74	0,49	†	†	†
SP-D – выраженность бронхообструкции (по шкале CAT)	0,31	0,23	0,22	†	†	†	0,81	0,81	0,66
SP-A – 6 MX	-0,42	-0,29	-0,27	-0,53	-0,41	-0,39	-0,50	-0,80	-0,45

SP-D – 6 MX	-0,57	-0,39	-0,38	-0,49	-0,36	-0,35	-0,52	-0,84	-0,56
SP-A – ACE	0,40	0,30	0,29	0,54	0,40	0,40	†	†	†

† – отсутствие достоверных корреляций

Установлена прямая корреляция между фиброзом, превышающим 50% площади легких, и повышением SP-A, SP-D степенью одышки, наличием внелегочных изменений, диффузионной способностью легких у больных с ИЛФ (таблица 10).

Таблица 10

Корреляционный анализ максимально выраженного легочного фиброза (ЛФ>50%) в группе больных ИЛФ, (n=40), $p < 0,05$

Корреляции	Коэффициент корреляции		
	по Spearman	по Gamma	по Kendall
ЛФ>50% - SP-A	0,48	0,70	0,41
ЛФ>50% - SP-D	0,46	0,61	0,38
ЛФ>50% - mMRC	0,51	0,81	0,47
ЛФ>50% - 6MX	-0,36	-0,50	-0,30
ЛФ>50% - внелегочные изменения	0,41	0,78	0,41
ЛФ>50% - DLco	-0,38	0,74	-0,31

Установлены сильные прямые корреляционные связи между SP-A и внелегочными проявлениями, суставным синдромом ($r=0,99$), нормализованным показателем сатурации кислорода ($r=0,71$), феноменом «матового стекла» ($r=0,94$) в подгруппе I (больные с альвеолитом). В этой же подгруппе определена обратная связь между SP-A и DLco ($r=-0,70$).

Во II подгруппе (больные с прогрессирующим фиброзом) выявлены прямые сильные корреляции между SP-A и суставным синдромом ($r=0,87$), SP-A и степенью одышки ($r=0,78$), нормализованным показателем сатурации кислорода ($r=0,70$), рентгенологическим феноменом «матового стекла» ($r=0,74$). Прямые корреляции показаны между SP-D и степенью одышки ($r=0,87$), нормализованным показателем сатурации кислорода ($r=0,93$), значительным легочным фиброзом ($r=0,91$). Сильные обратные связи в этой подгруппе установлены между SP-D и сатурацией кислорода ($r=-0,79$), SP-D и DLco ($r=-0,83$) (таблица 11).

Таблица 11

Корреляционный анализ сурфактантных протеинов SP-A, SP-D в I и II подгруппах больных, (n= 81, p < 0,05)

корреляции	Подгруппа I (альвеолит), (n=32)			Подгруппа II (прогрессирующий фиброз), (n=49)		
	по Spearman	по Gamma	по Kendall	по Spearman	по Gamma	по Kendall
SP-A – внелегочные проявления	0,88	0,99	0,76	0,23	0,39	0,21
SP-A – суставной синдром	0,89	0,99	0,76	0,67	0,87	0,57
SP-D – суставной синдром	0,33	0,38	0,27	-0,01	-0,01	-0,01
SP-A – степень одышки (mMRC)	0,59	0,67	0,57	0,71	0,78	0,70
SP-D – степень одышки (mMRC)	0,49	0,54	0,47	0,83	0,87	0,80
SP-D – SatO ₂	-0,60	-0,59	-0,52	-0,77	-0,79	-0,69
SP-D – SatO ₂ норм	0,69	0,74	0,68	0,71	0,93	0,70
SP-A – SatO ₂ норм	0,63	0,71	0,30	0,51	0,70	0,49
SP-A- DLco	-0,74	-0,70	-0,69	-0,70	-0,68	-0,58
SP-D – DLco	-0,66	-0,68	-0,59	-0,82	-0,83	-0,80
SP-A – легочный фиброз > 50%	0,58	0,68	0,49	0,49	0,52	0,43
SP-D - легочный фиброз > 50%	†	†	†	0,85	0,91	0,83
SP-D - легочный фиброз > 20 <45%	0,60	0,70	0,50	**	**	**
SP-A – «матовое стекло»	0,86	0,94	0,82	0,58	0,74	0,49
SP-D -«матовое стекло»	0,51	0,60	0,47	0,41	0,57	0,40
SP-A – легочный фиброз < 20%	-0,23	-0,41	-0,25	#	#	#
SP-D - легочный фиброз < 20%	-0,33	-0,44	-0,27	#	#	#
SP-A – CA 15-3	**	**	**	0,33	0,24	0,24
SP-D – CA 15-3	**	**	**	0,56	0,40	0,40
ЛДГ- SP-A	**	**	**	0,39	0,30	0,29
ЛДГ- SP- D	**	**	**	**	**	**

* для проведения корреляционного анализа использовали нормализованный показатель сатурации O₂

легочный фиброз <20% в подгруппе прогрессирующего фиброза не определялся

† легочный фиброз > 50% в подгруппе альвеолита не выявлен

** корреляции не выявлены

Корреляционный анализ в подгруппе II между показателем СА 15-3 и сурфактантным белком А выявил отсутствие связи ($r=0,24$), с сурфактантным белком D прямая связь была средней степени ($r=0,56$), аналогично и связи СА 15-3 и максимально выраженного легочного фиброза ($r=0,63$), а также обратной связи с сатурацией кислорода ($r=-0,62$). Сильная обратная связь выявлена между СА 15-3 и ОФВ₁ ($r=-0,24$). Корреляции между ЛДГ и сурфактантными белками не выявлены (таблица 12). Также не подтверждено наличие связей между ЛДГ и сатурацией кислорода, слабая тенденция намечена между ЛДГ и рентгенологическим симптомом «матового стекла» (таблица 12).

Таблица 12

**Корреляционный анализ СА 15-3, ЛДГ в I и II подгруппах больных,
(n= 81, p < 0,05)**

корреляции	Подгруппа I (альвеолит), r (n=32)			Подгруппа II (прогрессирующий фиброз), r (n=49)		
	по Spearman	по Gamma	по Kendall	по Spearman	по Gamma	по Kendall
СА 15-3 – легочный фиброз>50%	#	#	#	0,43	0,63	0,36
СА 15-3 – Sat O ₂	#	#	#	-0,62	-0,53	-0,50
ЛДГ- «матовое стекло»	#	#	#	0,31	0,38	0,25
ЛДГ- Sat O ₂	#	#	#	-0,35	-0,27	-0,25

- корреляции не выявлены

Анализ бинарных показателей (анализ таблиц сопряженности)

Методом анализа таблиц сопряженности характеризовали качественные (бинарные) параметры, исследованные в группах больных. Выбраны бинарные показатели и по каждой сопряженной паре проведен статистический анализ. Анализ бинарных показателей выявил зависимость между наличием ИЛФ и саркоидоза и формированием минимального легочного фиброза, при этом связи с возрастом, в том числе при распределении по возрастным категориям, выявлено не было. Внелегочные проявления имели зависимость от наличия рентгенологического признака «матовое легкое» только у больных ИЛФ (таблица 13).

Таблица 13

Сводные результаты анализа бинарных показателей в группах обследованных больных (n=81)

параметры	ИЛФ	Саркоидоз
	p***	p***
Минимальный легочный фиброз/диагноз	<0,05	<0,05
Пол/«матовое стекло»	>0,05	>0,05
Возраст 20 – 45 лет /«матовое стекло»	>0,05	>0,05
Возраст 46 – 76 лет /«матовое стекло»	>0,05	>0,05
Пол/«сотовое легкое»	>0,05	*
Пол/ максимальный легочный фиброз	>0,05	**
«Матовое стекло»/ внелегочные проявления	<0,05	>0,05

* рентгенологический признак «сотовое легкое» не выявляли в группе больных саркоидозом

** рентгенологический признак «максимальный легочный фиброз» не выявляли в группе больных саркоидозом

***p>0,05 по статистике Хи-квадрат Пирсона

Статистический анализ на основе метода дистанс взвешенных квадратных отклонений

Указанный метод позволяет не только ранжировать полученные результаты, что позволяет оценить отдельные диапазоны изученных параметров, но и, в определенной степени, предсказывать возможность наступления событий.

В группе больных саркоидозом показано, что рентгенологический симптом «матовое стекло» чаще встречается при повышении SP-A. Изученные показатели прямо связаны между собой (последовательный переход в салатовую зону, затем желтая и красные зоны). Менее, чем 30% повышение SP-D слабо связано с симптомом альеолита и занимает на графике минимальную площадь (правая верхняя хвостовая зона). Отсутствие симптома «матового стекла» и повышение SP-D более 30% от верхней границы нормы отражает наличие такой части больных, составляющих не более 20% от всей группы (темно-зеленая зона) (рисунок 1).

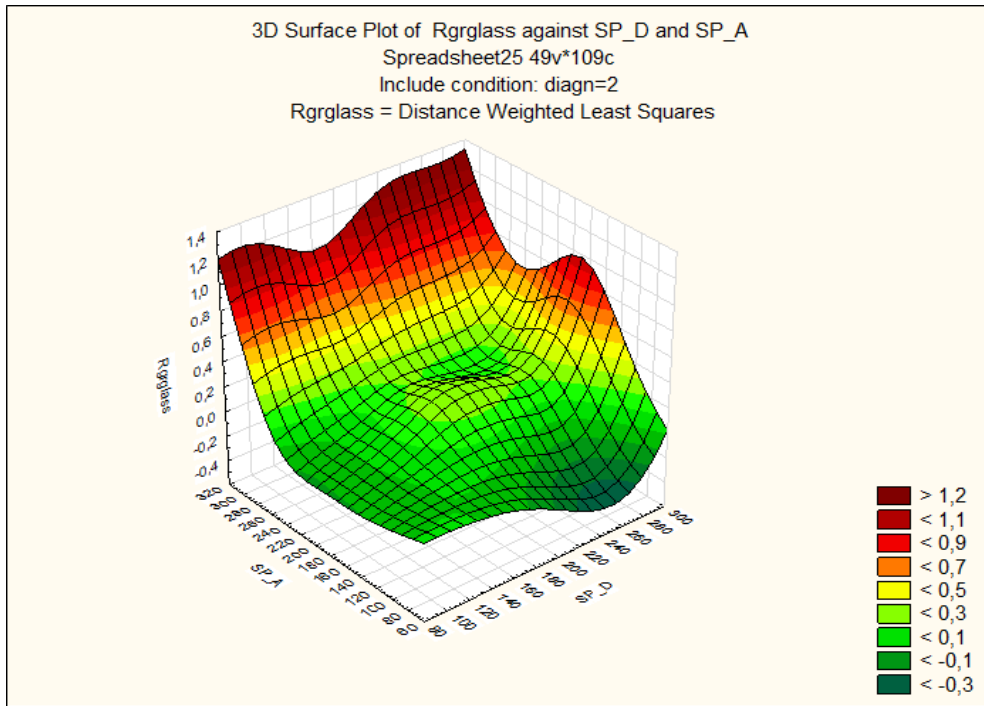


Рисунок 1. 3D графическое изображение зависимости рентгенологического симптома «матового стекла» от показателей SP-A и SP-D в группе больных саркоидозом

В группе ИЛФ между сурфактантными протеинами и рентгенологическим симптомом «матового стекла» выявлены следующие связи: чем выше SP-A, тем чаще регистрируется этот рентгенологический симптом (красно-бардовая зона), чем выше SP-D, тем он реже и совсем отсутствует (темно-зеленая зона) (рисунок 2).

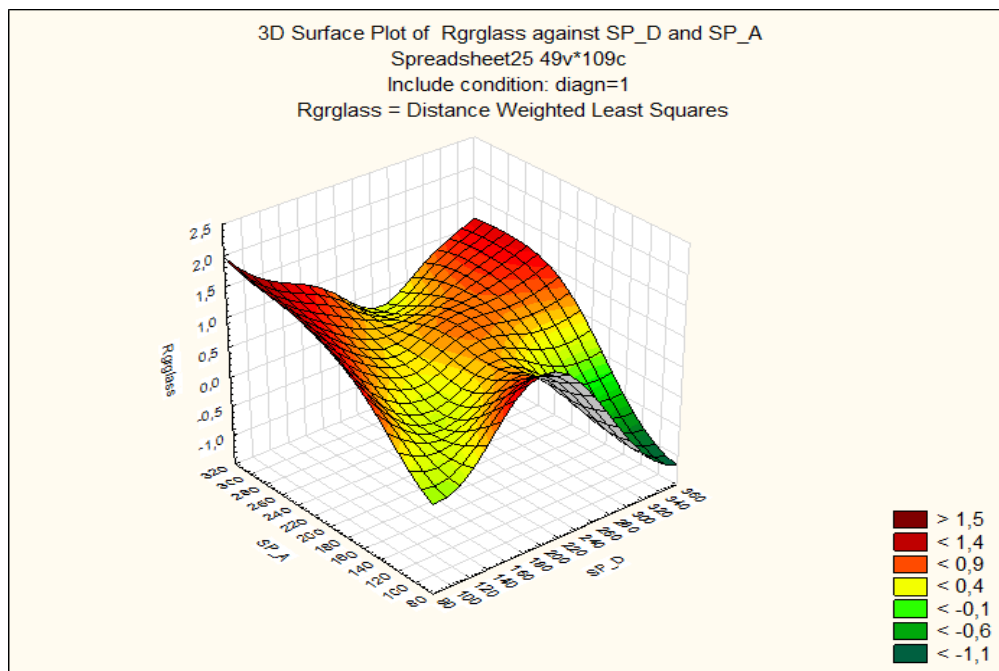


Рисунок 2. 3D графическое изображение зависимости рентгенологического симптома «матового стекла» от показателей SP-A и SP-D в группе больных ИЛФ

В целом, метод дистанс взвешенных квадратных отклонений подтвердил полученные результаты корреляционного анализа, а также позволил обсуждать прогностическое значение изученных сурфактантных белков А и D .

Полученные результаты показали, что по клиническим признакам группы больных достоверно отличались от соответствующей им по демографическим показателям группы контроля. Это касалось, прежде всего, параметров респираторной системы. По показателям одышки, в том числе уточненной по шкале mMRC, спирометрическим данным, результатам исследования сатурации кислорода, теста 6-тиминутной ходьбы обе группы обследованных больных достоверно отличались от контрольной ($p < 0,001$). Дефицит респираторной функции максимально был выражен в группе больных ИЛФ по сравнению с группой саркоидоза ($p < 0,005$). Клинико-морфологические и рентгенологические признаки альвеолита были диагностированы в обеих группах, достоверно чаще у больных ИЛФ (65%) по сравнению с группой саркоидоза (31%) ($p < 0,025$). Дыхательная недостаточность высоких градаций с формированием ЛГ, «сотового» легкого, выраженного легочного фиброза, прироста площади фиброза более 20% за год наблюдения была диагностирована достоверно чаще в группе ИЛФ (67%) по сравнению с группой саркоидоза (5%) ($p < 0,001$). В результате проведенного исследования нами получены данные, свидетельствующие о роли сурфактантных протеинов А и D в отражении последовательных патогенетических стадий течения основных хронических форм ИБЛ. У всех обследованных нами пациентов с ИБЛ отмечалось повышение концентраций SP-A и SP-D в крови по сравнению с контролем. По мере прогрессирования ИБЛ повышение SP-A в большей степени ассоциировалось с увеличением выраженности клинических, морфологических и рентгенологических признаков альвеолита, а повышение SP-D выявляли при нарастании площади и степени легочного фиброза, его трансформации в «сотовое» легкое, что также отражалось клиническими и инструментальными методами. Эти проявления были общими как для группы ИЛФ, так и для группы саркоидоза. Комплексный статистический анализ позволил выделить прогностическое значение

обоих сурфактантных белков в оценке возможности дальнейшего прогрессирования каждой из изученных форм ИБЛ. Так, повышение SP-A в 2 и более раз по сравнению с верхней границей нормы позволяло с высокой степенью достоверности предположить в ближайшее время увеличение выраженности альвеолита, что и было показано при динамической оценке компьютерно- томографической картины ($p < 0,005$). Повышение SP-D в 2 и более раз прогнозировало рост площади и выраженности легочного фиброза, что также подтверждалось при динамической оценке компьютерно - томографической картины ($p < 0,005$). Высокие значения сурфактантных белков А и D с высокой достоверностью коррелировали с морфологическими заключениями об активном альвеолите или выраженном легочном фиброзе соответственно ($p < 0,001$). У 9 пациентов (2 с саркоидозом, 7 с ИЛФ) наблюдали параллельное значительное повышение обоих сурфактантных протеинов, что клинически проявлялось и активным альвеолитом, и значительным легочным фиброзом, причем прогрессирующего течения, как показало динамическое наблюдение с оценкой МСКТ- картины, респираторных тестов. Именно у этих пациентов сформировалась или усугубилась легочная гипертензия. Полученные нами данные согласуются с результатами ряда зарубежных исследователей [Doubková M, et al, 2016, Raghu G. Et al, 2017, Sally J. et al, 2014]. Однако в зарубежной практике, в отличие от нашей работы, не было проведено полного сопоставления клинико-морфологических, рентгенологических и лабораторных параметров. Следует отметить, что сурфактантный протеин SP-A повышался до того, как начинали достоверно снижаться спирометрические показатели в группе альвеолита. Важным явилось получение доказательства отсутствия влияния возраста на формирование легочного фиброза ($p > 0,05$). Регрессионный логистический анализ, проведенный, в том числе, с применением метода дистанс взвешенных квадратных отклонений позволяет обсуждать прогностическое значение обоих сурфактантных протеинов. Так, повышение SP-A в большей степени ассоциировано с признаками альвеолита, в том числе рентгенологическим его эквивалентом симптомом «матового стекла». Повышение SP-D в значительной степени отражает прогрессирование легочного фиброза, хотя

начинает умеренно повышаться на стадии альвеолита с элементами формирующегося фиброза. Описано, что развитие ИЛФ и саркоидоза может характеризоваться замещением воспалительного процесса на территории альвеол и интерстиция склеротической тканью (чаще при ИЛФ, реже при саркоидозе) или восстановлением легочных структур (чаще при острых формах саркоидоза и ИЛФ) [Коган Е.А., 2001, 2007, Мухин Н.А., Серов В.В., 1997, Пальцев М.А., 2005, Попова Е.Н., 2014]. Рядом ученых и ранее отмечалось, что повышение сурфактантных протенов А и D ассоциированы с активностью легочного процесса у больных ИЛФ [Reiseter S. et al, 2017, Nishikiory H. et al, 2014], реже у больных саркоидозом [Kunitake R. et al, 2001, Kuroki Y et al, 1998]. Нами впервые проведено отечественное клинико-морфологическое, рентгенологическое сопоставление легочных процессов с лабораторными маркерами, позволившее выделить значение каждого из изученных сурфактантных белков на соответствующих стадиях развития хронических форм ИБЛ.

Выводы

1. Клинико-морфологические, рентгенологические признаки активности течения легочного процесса, проявляющиеся альвеолитом, диагностированы у 31% больных хроническим саркоидозом, у 65 % больных ИЛФ. Признаки прогрессирующего легочного фиброза с формированием дыхательной недостаточности II, III степени диагностированы у 67% больных ИЛФ, у 5% больных хроническим саркоидозом.
2. Сурфактантный протеин А преимущественно отражал патогенетическую воспалительную стадию альвеолита у больных хроническим саркоидозом ($r=0,99$) и у больных ИЛФ ($r=0,74$). Сурфактантный протеин D преимущественно отражал патогенетическую стадию прогрессирования легочного фиброза у больных ИЛФ ($r=0,91$) и у больных хроническим саркоидозом ($r=0,70$).
3. Сурфактантные протеины А и D имеют прогностическое значение в отношении формирования дыхательной недостаточности у больных с основными формами ИБЛ на поздней стадии: у пациентов с выраженными фиброзными

изменениями в лёгких установлены разнонаправленные колебания концентраций SP-A и SP-D в крови: снижение уровня SP-A и повышение уровня SP-D ($p < 0,001$).

4. Наличие внелегочных проявлений способствует более тяжелому течению легочного повреждения у больных с ИЛФ ($r=0,90$) и саркоидозом ($r=0,78$), коррелирует с большей частотой повышения SP-A ($p < 0,005$) у больных саркоидозом.

5. Активность ангиотензинпревращающего фермента в крови коррелирует с повышением SP-A ($r=0,54$) и связана с тяжестью альвеолита только у больных хроническим саркоидозом ($p < 0,005$).

Практические рекомендации

Определение концентрации SP-A и SP-D в крови рекомендовано проводить больным ИБЛ с целью определения наличия активности воспалительного процесса (альвеолита) и установления риска развития и прогрессирования фиброза лёгких у больных;

показатели сурфактантных протеинов А и D целесообразно сопоставлять с результатами рентгенологического обследования, морфологической картиной;

для оценки динамики поражения легких и развития дыхательной недостаточности показано выполнять комплексное обследование с включением респираторных тестов, МСКТ органов грудной клетки, определения SP-A, SP-D, активности АПФ в крови каждые 6 месяцев.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АГ - артериальная гипертония

АПФ – ангиотензин превращающий фермент

БАЛЖ – бронхоальвеолярная жидкость

ЖЕЛ - жизненная ёмкость лёгких

ИБЛ – интерстициальные болезни лёгких

ИЛ - интерлейкин

ИЛФ – идиопатический лёгочный фиброз

ИФА – идиопатический фиброзирующий альвеолит

ЛА – лёгочная артерия

ЛГ – лёгочная гипертензия

ЛДГ – лактатдегидрогеназа

ЛФ – легочный фиброз

МСКТ – мультиспиральная компьютерная томография

ОФВ₁ – объём форсированного выдоха за 1-ую секунду

ПЭТ – позитронно-эмиссионная томография

СДЛА – систолическое давление в лёгочной артерии

ФВД – функция внешнего дыхания

ФЖЕЛ – форсированная жизненная ёмкость лёгких

ФНО – фактор некроза опухоли

ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких

ЭАА – экзогенный аллергический альвеолит

Эхо-КГ – эхокардиография

СА 15-3 – гликопротеин муцинового типа СА 15-3

DL_{со} – диффузионная способность легких

SIL-2R – растворимые рецепторы к интерлейкину 2

SP-A – сурфактантный протеин А

SP-D - сурфактантный протеин D

TGF - трансформирующий фактор роста

VEGF – фактор роста эндотелия сосудов

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Бекетов В. Д., Мухин Н.А., Попова Е. Н., Сосновская А. В., Коновалов Д.В., Бровко М.Ю. Трудности диагностики интерстициальной болезни легких. // Врач. - 2016. - N 2. - С. 9-10.
2. Бекетов В. Д., Мухин Н.А. Клиническое значение определения серологических сурфактантных протеинов А и D и других биологических маркеров в диагностике саркоидоза и идиопатического легочного фиброза. // Клиническая фармакология и терапия. - 2017. № 26 (4). – С. 14-19.
3. Лебедева М.В., Бекетов В.Д., Стрижаков Л.А. Клиническое значение определения сурфактантных белков SP-A и SP-D в диагностике интерстициальных болезней легких у работающих в оптимальных и допустимых условиях труда. // Медицина труда и промышленная экология. – 2017.- № 9. С.
4. Лебедева М.В., Попова Е.Н, Пономарев А.Б, Бекетов В.Д, Селиванова О.Ю. Артериальная гипертензия у больных саркоидозом. // Врач. – 2013.- №9. - С.66 – 69.
5. Лебедева М.В., Попова Е.Н, Пономарев А.Б, Бекетов В.Д, Арион Е.А. Трудности диагностики легочного саркоидоза у больной с вариантной формой аутоиммунного гепатита. // Врач. – 2013.- №11. - С.41 – 43.
6. Волель Б.А, Макух Е.А, Лебедева М.В., Попова Е.Н, Шоломова В.И, Андросова Л.А, Мухин Н.А, Бекетов В.Д, Бровко М.Ю., Ключник Т.Ю. Клинико-лабораторные маркеры астенического синдрома у больных саркоидозом. //Врач. – 2016. - №7. – С.74-76.
7. Бекетов В.Д., Лебедева М.В., Мухин Н.А., Серова А.Г., Пономарев А.Б., Попова Е.Н., Янакаева А.Ш., Соломка А.А., Кондрашов А.В., Коновалов Д.В. Сурфактантные протеины белки А и D в диагностике идиопатического легочного фиброза и саркоидоза - **подано в печать**

8. Бекетов В.Д., Лебедева М.В., Мухин Н.А., Попова Е.Н., Серова А.Г., Соломка А.А., Кондрашов А.В., Пономарев А.Б., Бровко М.Ю. Клиническое значение определения сурфактантных протеинов А и D в оценке активности саркоидоза легких – **подано в печать**

Бекетов Владимир Дмитриевич (Российская Федерация)

Клиническое значение определения серологических биомаркеров SP-A, SP-D в диагностике саркоидоза и идиопатического легочного фиброза

81 пациенту (средний возраст $48,5 \pm 14,6$ лет) с идиопатическим легочным фиброзом и саркоидозом было выполнено исследование сывороточных сурфактантных протеинов А и D (SP-A, SP-D) методом иммуноферментного анализа (ELISA). У всех пациентов проведено стандартное клиничко-инструментальное обследование, включающее легочные функциональные тесты, мультиспиральную компьютерную рентгенографию легких в режиме высокого разрешения, эхокардиографию, определение толерантности к физической нагрузке. Концентрация сывороточных сурфактантных протеинов А и D достоверно коррелирует с наличием поражения легких при идиопатическом легочном фиброзе и саркоидозе, достоверно выше при наличии признаков «матового стекла» и «сотового легкого». С высокими степенями достоверности уровень SP-A выше у лиц с признаками альвеолита, а SP-D у пациентов с прогрессирующим фиброзом легких. Показатели SP-A прямо коррелируют с наличием внелегочных проявлений как у больных саркоидозом, так и у пациентов с идиопатическим легочным фиброзом. Сывороточные сурфактантные протеины А и D могут рассматриваться в ряду биомаркеров тяжести поражения легких при основных формах интерстициальных болезней легких, в том числе саркоидоза и идиопатического легочного фиброза.

Beketov Vladimir Dmitrievich (Russian Federation)

In 81 patients (mean age 48.5 ± 14.6 years) with idiopathic pulmonary fibrosis and sarcoidosis, serum surfactant proteins A and D (SP-A, SP-D) were tested by ELISA. All patients underwent a standard clinical and instrumental examination, including pulmonary function tests, multispiral lung radiography in high resolution mode, echocardiography, determination of exercise tolerance.

Results: the concentration of serum surfactant proteins A and D significantly correlated with the presence of pulmonary lesion in idiopathic pulmonary fibrosis and sarcoidosis, significantly higher in the presence of signs of "ground glass opaque" and "honeycomb". With high levels of confidence, the level of SP-A is higher in individuals with signs of alveolitis, and SP-D in patients with progressive pulmonary fibrosis. SP-A rates correlate directly with the presence of extrapulmonary manifestations both in patients with sarcoidosis and in patients with idiopathic pulmonary fibrosis.

Conclusion: serum surfactant proteins A and D can be considered in a series of biomarkers of lung injury severity in the main forms of interstitial lung diseases, including sarcoidosis and idiopathic pulmonary fibrosis.