

Использование рутинных тестов общего анализа крови для прогнозирования устойчивости к глюкокортикостероидной терапии у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких

А.Г.Кадушкин¹, А.Д.Таганович¹, Л.В.Мовчан², Т.В.Шман², В.К.Панасюк³, Г.К.Новская³

1 – Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»: 220116, Республика Беларусь, Минск, пр. Дзержинского, 83;

2 – Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии»: 223053, Республика Беларусь, Минская обл., Минский р-н, д. Боровляны, ул. Фрунзенская, 43;

3 – Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии»: 220053, Республика Беларусь, Минск, Долгиновский тракт, 157

Информация об авторах

Кадушкин Алексей Геннадьевич — к. м. н., доцент кафедры биологической химии Учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет»; тел.: (37517) 207-93-92; e-mail: kadushkyn@gmail.com

Таганович Анатолий Дмитриевич — д. м. н., заведующий кафедрой биологической химии Учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет»; тел.: (37517) 277-17-64; e-mail: taganovich@bsmu.by

Мовчан Людмила Викторовна — к. б. н., врач лабораторной диагностики клинко-диагностической лаборатории Государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии»; тел.: (37517) 265-40-89; e-mail: movchan-l@mail.ru

Шман Татьяна Викторовна — к. б. н., заведующая лабораторией иммунологических методов исследования Государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии»; тел.: (37517) 265-40-89; e-mail: shman@oncology.by

Панасюк Василий Константинович — заведующий эндоскопическим отделением Государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии»; тел.: (37517) 289-83-53; e-mail: niipulm@tut.by

Новская Галина Константиновна — заведующая пульмонологическим отделением Государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии»; тел.: (37517) 289-03-54; e-mail: nowskayagk@gmail.com

Резюме

Резистентность к глюкокортикостероидам (ГКС) представляет собой существенную проблему при лечении хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ). Целью настоящей работы явилось определение значения показателей общего анализа крови, субпопуляций лимфоцитов, цитокинов в периферической крови у пациентов с ХОБЛ для оценки устойчивости к терапии ГКС. **Материалы и методы.** В исследовании приняли участие пациенты ($n = 45$), которым на следующий день после госпитализации в связи с обострением ХОБЛ выполнялась бронхоскопия. Все пациенты с ХОБЛ на основании способности дексаметазона подавлять стимулированную секрецию интерлейкина-8 в альвеолярных макрофагах на 50 % были условно разделены на ГКС-чувствительных и ГКС-резистентных. В периферической крови у всех обследованных определялись параметры общего анализа крови, процентное содержание субпопуляций лимфоцитов, концентрация цитокинов, иммуноглобулина Е, гормонов. **Результаты.** Показано, что для резистентных к терапии ГКС пациентов с ХОБЛ по сравнению со ГКС-чувствительными характерно повышение уровня фактора, ингибирующего миграцию макрофагов (MIF), отношения абсолютных количеств нейтрофилов к лимфоцитам (ОНЛ) и тромбоцитов к лимфоцитам (ОТЛ), снижение абсолютного и относительного количества эозинофилов. Абсолютное количество эозинофилов ниже порогового значения $0,126 \times 10^9 / л$ позволяет прогнозировать резистентность к ГКС с чувствительностью 83,3 % и специфичностью 55,6 %, площадь под ROC-кривой (AUC) для этого теста составляет 0,677. Относительное количество эозинофилов ниже порогового значения на 1,2 % является предиктором устойчивости к ГКС с чувствительностью 83,3 %, специфичностью 63,0 %, AUC = 0,751. ОНЛ, ОТЛ, уровень MIF выше пороговых значений 2,75, 116, 2,24 нг / мл соответственно являются диагностически значимыми при прогнозировании резистентности к ГКС у пациентов с ХОБЛ с чувствительностью 66,7; 61,1; 72,2 %, специфичностью 74,1; 77,8; 70,4 % и AUC = 0,731; 0,678 и 0,740 соответственно. При одновременном определении в периферической крови относительного количества эозинофилов, ОНЛ и ОТЛ повышается прогнозирование устойчивости к ГКС до чувствительности 83,3 %, специфичности 77,8 %, AUC = 0,805. Сочетание относительного количества эозинофилов, ОТЛ и уровня MIF позволяет предсказывать резистентность к ГКС с чувствительностью 83,3 %, специфичностью 88,9 % и AUC = 0,889. **Заключение.** У ГКС-резистентных и ГКС-чувствительных пациентов с ХОБЛ имеются существенные различия абсолютного и относительного количества эозинофилов, ОНЛ, ОТЛ, уровня MIF. Эти показатели могут использоваться для прогнозирования устойчивости к терапии ГКС.

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь легких, альвеолярные макрофаги, глюкокортикостероиды, резистентность к глюкокортикостероидам, бронхоальвеолярная лаважная жидкость, прогнозирование, ответ, фактор, ингибирующий миграцию макрофагов.

Для цитирования: Кадушкин А.Г., Таганович А.Д., Мовчан Л.В., Шман Т.В., Панасюк В.К., Новская Г.К. Использование рутинных тестов общего анализа крови для прогнозирования устойчивости к глюкокортикостероидной терапии у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких. *Пульмонология*. 2018; 28 (6): 681–692. DOI: 10.18093/0869-0189-2018-28-6-681-692

Use of the routine complete blood count to predict steroid resistance in patients with chronic obstructive pulmonary disease

Aleksey G. Kadushkin¹, Anatoliy D. Taganovich¹, Lyudmila V. Movchan², Tat'yana V. Shman², Vasilii K. Panasyuk³, Galina K. Novskaya³

1 – Belarus' State Medical University: pr. Dzerzhinskogo 83, Minsk, 220116, Belarus';

2 – Belarus' Republic Research and Practical Center of Pediatric Oncology, Hematology and Immunology: ul. Frunzenskaya 43, Borovlyany village, Minsk region, 223053, Belarus';

3 – Belarus' Republic Research and Practical Center of Pulmonology and Phthysiology: Dolginovskiy tract 157, Minsk, 220053, Belarus'

Author information

Aleksey G. Kadushkin, Candidate of Medicine, Associate Professor, Department of Biological Chemistry, Belarus' State Medical University; tel.: (37517) 207-93-92; e-mail: kadushkyn@gmail.com

Anatoliy D. Taganovich, Doctor of Medicine, Head of Department of Biological Chemistry, Belarus' State Medical University; tel.: (37517) 277-17-64; e-mail: taganovich@bsmu.by

Lyudmila V. Movchan, Candidate of Biology, Laboratory Physician, Clinical Diagnostic Laboratory, Belarus' Republic Research and Practical Center of Pediatric Oncology, Hematology and Immunology; tel.: (37517) 265-40-89; e-mail: movchan-l@mail.ru

Tat'yana V. Shman, Candidate of Biology, Head of Laboratory of Immunological Investigations, Belarus' Republic Research and Practical Center of Pediatric Oncology, Hematology and Immunology; tel.: (37517) 265-40-89; e-mail: shman@oncology.by

Vasily K. Panasyuk, Head of Endoscopy Department, Belarus' Republic Research and Practical Center of Pulmonology and Phthysiology; tel.: (37517) 289-83-53; e-mail: niipulm@tut.by

Galina K. Novskaya, Head of Pulmonology Department, Belarus' Republic Research and Practical Center of Pulmonology and Phthysiology; tel.: (37517) 289-03-54; e-mail: nowskayagk@gmail.com

Abstract

The aim of the present study was to investigate the significance of complete blood count, lymphocyte subpopulations, and cytokines in the peripheral blood in order to evaluate steroid resistance in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). **Methods.** Forty five patients with acute exacerbation of COPD (AECOPD) who underwent bronchoscopy the next day after hospital admission were included in the study. The patients were considered as steroid-sensitive or steroid-resistant according to the ability of dexamethasone to inhibit 50% of interleukin-8 production by alveolar macrophages. Complete blood count, lymphocyte subpopulations, cytokines, immunoglobulin E, and hormone level were measured in the peripheral blood of all patients with COPD. **Results.** Macrophage migration inhibitory factor (MIF) level, neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR), and platelet-to-lymphocyte ratio (PLR) were higher, and absolute and relative eosinophil numbers were lower in steroid-resistant patients with COPD compared to steroid-sensitive COPD patients. Absolute eosinophil number below the cut-off value of $0.126 \times 10^9/L$ was predictive for steroid resistance with the sensitivity of 83.3%, the specificity of 55.6% and the area under ROC curve (AUC) of 0.677. Relative eosinophil number below 1.2% predicted steroid resistance with sensitivity, specificity and AUC of 83.3%, 63.0%, and 0.751, respectively. NLR, PLR, and MIF higher than 2.75, 116, and 2.24 ng/mL, respectively, predicted steroid resistance with the sensitivities of 66.7%, 61.1%, and 72.2%, respectively; the specificities of 74.1%, 77.8%, and 70.4%, respectively; and the AUCs of 0.731, 0.678, and 0.740, respectively. The combination of relative eosinophil number, NLR and PLR increased the sensitivity to 83.3%, specificity to 77.8%, and AUC to 0.805. The combination of relative eosinophil number, PLR and MIF increased the sensitivity to 83.3%, specificity to 88.9%, and AUC to 0.889. **Conclusion.** Steroid-resistant and steroid-sensitive COPD patients differ in absolute and relative eosinophil numbers, NLR, PLR, and MIF level. These parameters could be used to predict steroid resistance in COPD.

Key words: COPD, alveolar macrophages, glucocorticoids, steroid resistance, bronchoalveolar lavage fluid, prediction, response, macrophage migration inhibitory factor.

For citation: Kadushkin A.G., Taganovich A.D., Movchan L.V., Shman T.V., Panasyuk V.K., Novskaya G.K. Use of the routine complete blood count to predict steroid resistance in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Russian Pulmonology*. 2018; 28 (6): 681–692 (in Russian). DOI: 10.18093/0869-0189-2018-28-6-681-692

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) характеризуется персистирующим ограничением скорости воздушного потока, которое, несмотря на лечение, обычно прогрессирует [1]. При терапии пациентов с ХОБЛ с использованием ингаляционных глюкокортикостероидов (иГКС) и длительно действующих β_2 -агонистов улучшаются функция легких и качество жизни, снижается частота обострений [2, 3]. Однако не все пациенты в одинаковой степени подвержены действию этих препаратов. Наличие значительной доли больных ХОБЛ, устойчивых к иГКС, наряду с тем, что их применение увеличивает риск развития пневмонии [4], диктует необходимость своевременного, до начала терапии, определения потенциальной чувствительности к иГКС. Несмотря на актуальность задачи, она остается нерешенной. Поиск биомаркеров для оценки ответа на иГКС сможет позволить соотносить риск и преимущества использования этих препаратов при ХОБЛ и помочь клиницистам в подборе терапии.

У 40 % больных ХОБЛ в легких развивается воспалительная реакция, сопряженная с увеличением количества эозинофилов [5]. Оказавшись в дыхательных путях, эозинофилы секретируют цитокины (интерлейкин (IL)-2, -3, -4, -5, -10, -12, -13, -16, -25),

хемокины (CCL5, CCL11, CCL13) и факторы роста (фактор некроза опухоли (TNF), трансформирующий фактор роста- α / β), которые поддерживают воспалительный процесс и способствуют повреждению легочной ткани [6]. Сообщается, что количество эозинофилов крови может использоваться в качестве предиктора ответа на ГКС [7, 8]. Однако подобные исследования носят спорадический характер, в них отсутствуют сведения о диагностической чувствительности (ДЧ) и специфичности (ДС) использования этого теста для прогнозирования устойчивости к терапии ГКС.

Помимо эозинофилов, хронический воспалительный процесс при ХОБЛ характеризуется вовлечением других клеток крови. Нейтрофилы, будучи активированными, секретируют IL-8, IL-17A, гранулоцитарный хемотаксический протеин-2 (GCP-2/CXCL6), нейтрофильную эластазу, катепсин-G, протеиназу-3, матриксные металлопротеиназы-8 и -9, миелопероксидазу и другие медиаторы, которые принимают участие в патофизиологических механизмах развития ХОБЛ [9].

Т-лимфоциты-хелперы секретируют цитокины, которые координируют работу других иммунокомпетентных клеток. В частности, указанные клетки

могут продуцировать фактор, ингибирующий миграцию макрофагов (MIF) [10]. MIF способен подавлять эффекты ГКС за счет ингибирования фермента МКР-1 (фосфатазы-1 митоген-активируемой протеинкиназы), обладающего противовоспалительным действием [11].

Тромбоциты экспрессируют на своей поверхности Р-селектин, секретируют различные цитокины и медиаторы, в т. ч. IL-1 α , IL-1 β , CCL5, MIP-1 α , фактор роста тромбоцитов, которые регулируют активацию нейтрофилов, моноцитов, Т-лимфоцитов и их трансэндотелиальную миграцию, таким образом участвуя в модуляции воспалительного иммунного ответа [12]. Появились сведения о том, что количественное отношение нейтрофилов к лимфоцитам (ОНЛ) и тромбоцитов к лимфоцитам (ОТЛ) отражает тяжесть течения ХОБЛ, риск развития обострений и других неблагоприятных событий [13, 14].

Таким образом, количественная оценка клеточного состава периферической крови и концентрации цитокинов, вовлеченных в функционирование клеток крови, представляется перспективной в поиске прогностических маркеров резистентности к ГКС. Целью настоящей работы явилось определение значения показателей общего анализа крови, субпопуляций лимфоцитов, цитокинов в периферической крови пациентов с ХОБЛ для оценки устойчивости к терапии ГКС.

Материалы и методы

В исследовании приняли участие пациенты ($n = 45$), которым на следующий день после госпитализации в связи с обострением ХОБЛ выполнялась бронхоскопия. У всех больных индекс курения составил > 10 пачко-лет. Для исключения острого влияния сигаретного дыма на результаты исследования обследо-

уемые воздерживались от курения в течение 12 ч, предшествующих бронхоскопии.

Критериями включения пациентов в исследование явились среднетяжелая и тяжелая степень ХОБЛ согласно критериям Глобальной стратегии диагностики, лечения и профилактики ХОБЛ (*Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease – GOLD*), возраст не моложе 40 лет, способность правильно выполнить дыхательный маневр при тестировании функции внешнего дыхания; критериями исключения из исследования – бронхиальная астма, атопия, аллергический ринит, острые инфекционные заболевания, туберкулез, заболевания соединительной ткани с изменениями функции дыхательной системы, острый коронарный синдром, онкологические заболевания, бронхоэктатическая болезнь, нарушения свертывающей системы крови, прием системных ГКС в течение 2 мес. до проведения исследования.

Все пациенты со 2-го дня пребывания в пульмонологическом отделении стационара (после выполнения бронхоскопии) получали системно 8 мг дексаметазона с последующим снижением дозы в течение 14 дней. При поступлении в стационар и после окончания курса терапии ГКС (на 15-й день с момента поступления) пациенты самостоятельно заполняли оценочный тест по ХОБЛ (*COPD Assessment Test – CAT*), позволяющий оценить качество жизни [15].

Всеми обследуемыми подписано письменное добровольное согласие на участие в исследовании. Проведение исследования одобрено решением Комитета по биомедицинской этике Учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет».

Культивирование макрофагов. Альвеолярные макрофаги выделялись из бронхоальвеолярной лаважной жидкости согласно описанной ранее методике [16]; 100 тыс. живых альвеолярных макрофагов помеща-

Таблица 1
Характеристика участников исследования
Table 1
Demographic characteristics of patients

Характеристика	ГКС-резистентные пациенты с ХОБЛ ($n = 18$)	ГКС-чувствительные пациенты с ХОБЛ ($n = 27$)	p
Возраст, годы	59,5 (55,0–68,0)	62,0 (57,0–70,0)	0,516
Пол:			
• мужчины	15	24	0,609
• женщины	3	3	
Статус курения:			
• курящие	8	10	0,633
• бывшие курильщики	10	17	
Индекс курения, пачко-лет	27,5 (20,0–45,0)	40,0 (29,0–50,0)	0,141
ОФВ ₁ , %дож.	44,5 (31,0–60,0)	49,0 (37,0–55,0)	0,643
ОФВ ₁ / ФЖЕЛ, %	53,0 (46,0–61,0)	53,0 (44,0–63,0)	0,618
Число пациентов с обострениями в предыдущем году:			
• редкими (0–1)	11	15	0,725
• частыми (≥ 2)	7	12	
Число пациентов, применяющих иГКС	11	13	0,406

Примечание: ГКС – глюкокортикостероиды, иГКС – ингаляционные глюкокортикостероиды; ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких; ОФВ₁ – объем форсированного выдоха за 1-ю секунду; ФЖЕЛ – форсированная жизненная емкость легких.

лись в лунки 96-луночного планшета; 5%-ный CO_2 выделялся путем адгезии к пластику (культуральный планшет *Corning Costar*, США) в течение 2 ч при 37 °C. К суспензии макрофагов добавлялся дексаметазон (*Sigma Aldrich*, США) в концентрации от 0,01 до 1000 нМ на 1 ч, затем — 1 мкг / мл липополисахарида, *Escherichia coli* B6-026 (*Sigma-Aldrich*, США) на 24 ч. По истечении 1 суток супернатанты собирались и хранились при температуре –20 °C. В них определялась концентрация IL-6, IL-8 и TNF- α методом иммуноферментного анализа (ИФА) согласно инструкции производителя (АО «Вектор Бест», Россия).

Определение концентрации цитокинов, иммуноглобулинов и гормонов в крови. Венозная кровь у обследуемых забиралась утром натощак на следующий день после поступления в стационар до проведения бронхоскопии в объеме 10 мл в пробирку, содержащую этилендиаминтетраацет калия в качестве антикоагулянта. Для получения плазмы образцы центрифугировались по истечении 1 ч после забора крови (3 000 об. / мин в течение 15 мин). До анализа плазма крови хранилась при температуре –75 °C. В ней определялась концентрация IL-4, -6, -8, -17A, TNF- α , MIF, GCP-2, иммуноглобулина (Ig) E, прогестерона, кортизола (АО «Вектор Бест», Россия; ООО «Хема», Россия; *Elabscience*, Китай) методом ИФА.

Фенотипирование популяций лимфоцитов. К 100 мкл крови добавлялись 2 коктейля моноклональных антител:

- CD25-PE/CD3-ECD/CD4-PE-Cy 5.5/CD127-PC7/CD14-APC/CD45-APC Alexa Fluor 750;
- CD19-PE/CD3-ECD/CD8-PC5/CD56-PC7/CD45-APC Alexa Fluor 750 (*Beckman Coulter*, Франция).

Клетки инкубировались в течение 20 мин в темноте при комнатной температуре. Эритроциты лизировались безотмывочным способом путем добавления 1 мл лизирующего раствора *Versalyse* (*Beckman Coulter*, Франция). Анализ популяций лимфоцитов

проводился на проточном цитометре *Navios* с использованием программного обеспечения *Kaluza* (*Beckman Coulter*, США).

Формула крови и концентрация лимфоцитов, нейтрофилов, эозинофилов и тромбоцитов подсчитывалась с помощью автоматического гематологического анализатора *Sysmex 5000i* (*Sysmex Corporation*, Япония).

Статистическая обработка данных осуществлялась с использованием пакетов статистического анализа данных *MedCalc* (*MedCalc Software*, Бельгия) и *Statistica 10.0* (*StatSoft Inc.*, США). Для проверки гипотезы нормальности распределения данных использовался критерий Шапиро–Уилка. Поскольку количественные значения показателей не подчинялись нормальному распределению, анализ проводился методами непараметрической статистики. Для сравнения данных между группами использовался U-критерий Манна–Уитни. Оценка интегральной диагностической информативности лабораторных тестов проводилась с помощью метода построения характеристических кривых (ROC-анализ). О диагностической ценности анализируемых показателей судили на основании расчета ДЧ, ДС, положительной и отрицательной прогностической ценности и диагностической эффективности (ДЭ) теста. Пороговое значение определялось как величина оптимального сочетания чувствительности и специфичности теста при построении кривых зависимости чувствительности от вероятности ложноположительных результатов.

Для построения прогностической модели использовался метод бинарной логистической регрессии. Качество приближения регрессионной модели оценивалось при помощи функции правдоподобия. Общая оценка согласия модели и реальных данных производилась с использованием теста согласия Хосмера–Лемешова. При всех видах статистического анализа критическое значение уровня значимости принималось равным 5 %.

Таблица 2
Параметры общего анализа крови у резистентных и чувствительных к глюкокортикостероидам пациентов с хронической обструктивной болезнью легких

Table 2
Complete blood counts in steroid-resistant and steroid-sensitive COPD patients

Показатель	ГКС-резистентные пациенты	ГКС-чувствительные пациенты	Значимость отличий p
Лимфоциты, $\times 10^9$ /л	2,1 (1,5–2,7)	2,2 (1,6–2,8)	0,720
Лимфоциты, %	20,0 (15,0–24,4)	26,9 (20,0–36,0)	0,011
Нейтрофилы, $\times 10^9$ /л	7,7 (5,7–8,6)	5,2 (3,4–6,2)	< 0,001
Нейтрофилы, %	69,0 (62,9–82,0)	62,0 (54,0–66,0)	0,005
Моноциты, $\times 10^9$ /л	0,8 (0,3–1,1)	0,7 (0,5–0,9)	0,591
Моноциты, %	7,0 (3,0–11,0)	9,0 (6,0–11,0)	0,371
Эозинофилы, $\times 10^9$ /л	0,042 (0,0–0,125)	0,154 (0,059–0,258)	0,044
Эозинофилы, %	0,5 (0,0–1,0)	2,0 (1,0–3,0)	0,004
Тромбоциты, $\times 10^9$ /л	236 (218–278)	185 (176–230)	0,014
ОНЛ	3,6 (2,4–5,5)	2,4 (1,5–3,6)	0,009
ОТЛ	123,5 (91,0–146,0)	92,0 (72,0–116,0)	0,046

Примечание: ГКС – глюкокортикостероиды; ОНЛ – отношение абсолютного количества нейтрофилов к абсолютному количеству лимфоцитов; ОТЛ – отношение абсолютного количества тромбоцитов к абсолютному количеству лимфоцитов.

Таблица 3
Уровень лабораторных параметров в периферической крови пациентов
с хронической обструктивной болезнью легких
Table 3
Peripheral blood parameters in COPD patients

Показатель	ГКС-резистентные пациенты	ГКС-чувствительные пациенты	Уровень значимости p
CD3 ⁺ -лимфоциты (относительно лимфоцитов), %	72,5 (64,3–80,4)	71,8 (60,3–77,4)	0,511
CD3 ⁺ CD4 ⁺ -лимфоциты (относительно лимфоцитов), %	42,6 (34,1–53,8)	44,7 (36,3–50,0)	0,906
CD3 ⁺ CD8 ⁺ -лимфоциты (относительно Т-лимфоцитов), %	39,9 (27,0–45,2)	35,5 (28,3–40,6)	0,599
CD19 ⁺ -лимфоциты (относительно лимфоцитов), %	13,0 (9,4–19,7)	10,9 (7,0–14,7)	0,358
CD3 ⁺ CD56 ⁺ -лимфоциты (относительно лимфоцитов), %	12,8 (6,3–20,3)	12,7 (8,2–30,6)	0,478
CD3 ⁺ CD56 ⁺ -лимфоциты (относительно лимфоцитов), %	3,0 (2,5–4,4)	2,6 (2,2–3,6)	0,270
CD4 ⁺ CD25 ⁺ CD127 [–] (относительно Т-хелперов), %	7,2 (6,9–8,5)	7,1 (5,9–8,0)	0,307
IL-4, нг / л	19,9 (0,4–29,5)	12,4 (3,0–38,3)	0,972
IL-6, нг / л	0,6 (0,0–10,5)	2,2 (0,0–8,5)	0,865
IL-8, нг / л	3,0 (2,0–4,5)	2,6 (1,2–5,5)	0,575
IL-17A, нг / л	101,4 (50,0–246,5)	71,7 (28,3–119,4)	0,093
TNF- α , мкг / л	0,0 (0,0–3,5)	0,0 (0,0–1,9)	0,482
MIF, нг / мл	4,3 (1,9–8,4)	0,8 (0,0–2,7)	0,007
GCP-2, пг / мл	3,1 (0,0–5,9)	3,1 (0,0–11,3)	0,823
IgE, МЕ / мл	350 (147–439)	145 (34–393)	0,261
Кортизол, нмоль / л	30,1 (7,5–275,0)	49,4 (10,4–267,8)	0,935
Прогестерон, нмоль / л	2,1 (0,9–4,3)	2,0 (1,0–3,0)	0,728

Примечание: ГКС – глюкокортикостероиды; IL – интерлейкин; TNF- α – фактор некроза опухоли- α ; MIF – фактор, ингибирующий миграцию макрофагов; GCP-2 – гранулоцитарный хемотаксический протеин-2.

Результаты и обсуждение

На основании способности дексаметазона подавлять стимулированную секрецию IL-8 в альвеолярных макрофагах на 50 % все пациенты с ХОБЛ были условно разделены на ГКС-чувствительных и ГКС-резистентных. Применяемая при распределении больных на ГКС-чувствительных и ГКС-резистентных методика была описана ранее [16]. У ГКС-чувствительных пациентов отмечена большая разница значения при проведении САТ в конце и начале стационарного лечения с использованием дексаметазона, чем у ГКС-резистентных. У ГКС-чувствительных пациентов она составила 6,0 (5,0–7,0) баллов (20,0 (18,0–23,0) баллов в начале лечения и 14,0 (12,0–16,0) баллов – на 15-й день терапии), у ГКС-резистентных – 4,0 (4,0–5,0) балла (21,5 (17,0–24,0) баллов в начале лечения и 17,0 (13,0–19,0) баллов – в конце курса терапии); $p < 0,001$.

Показатели общего анализа крови были проанализированы в зависимости от чувствительности клеток к ГКС (табл. 2). Такому же анализу были подвергнуты результаты измерения уровня цитокинов, гормонов, IgE, относительного количества субпопуляций лимфоцитов в периферической крови (табл. 3).

Из всех анализируемых показателей значительно более высоким было относительное и абсолютное количество эозинофилов у ГКС-чувствительных пациентов, чем у ГКС-резистентных. Относительное и абсолютное количество нейтрофилов, относительное количество лимфоцитов, абсолютное количество тромбоцитов, отношения абсолютного количества нейтрофилов к лимфоцитам и тромбоцитов к нейтрофилам, концентрация MIF в плазме

крови также существенно различались в зависимости от чувствительности альвеолярных макрофагов к ГКС. Результаты корреляционного анализа показывают их умеренную корреляционную связь с устойчивостью клеток к ГКС:

- $R = 0,383$ ($p = 0,009$) – для относительного количества лимфоцитов;
- $R = -0,548$ ($p < 0,001$) – для абсолютного количества нейтрофилов;
- $R = -0,427$ ($p = 0,003$) – для относительного количества нейтрофилов;
- $R = 0,306$ ($p = 0,041$) – для абсолютного количества эозинофилов;
- $R = 0,436$ ($p = 0,003$) – для относительного количества эозинофилов;
- $R = -0,370$ ($p = 0,012$) – для абсолютного количества тромбоцитов;
- $R = -0,393$ ($p = 0,008$) – для ОНЛ;
- $R = -0,302$ ($p = 0,044$) – для ОТЛ;
- $R = -0,409$ ($p = 0,005$) – для концентрации MIF.

Обнаруженная взаимосвязь дала основание включить эти показатели в ROC-анализ. ДЭ каждого из них в отдельности для прогнозирования устойчивости к ГКС, вычисленная на основе их ДЧ и ДС, находилась в пределах 66,7–80,0 % (табл. 4). Каждый из этих параметров характеризовался достаточно высокой прогностической значимостью, о чем свидетельствует площадь под ROC-кривой, которая находилась в пределах от 0,677 до 0,823.

Для повышения эффективности прогнозирования отобранные лабораторные показатели анализировались методом бинарной регрессии. Пошаговое включение параметров общего анализа крови в статистическую модель привело к составлению регрессионного уравнения (1), позволяющего прогнозировать

Таблица 4
Характеристики ROC-кривых для лабораторных показателей при оценке устойчивости к терапии глюкокортикостероидами у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких
Table 4
ROC analysis to detect steroid resistance in COPD

Показатель	Пороговое значение	ДЧ (95%-ный ДИ)	ДС (95%-ный ДИ)	ДЭ	AUC (95%-ный ДИ)	p (vs AUC = 0,5)	Индекс Юдена
Лимфоциты, %	≤ 24,4	77,8 (52,4–93,6)	63,0 (42,4–80,6)	68,9	0,725 (0,572–0,848)	0,003	0,4074
Нейтрофилы, × 10 ⁹ / л	> 7,24	61,1 (35,7–82,7)	92,6 (42,4–80,6)	80,0	0,823 (0,680–0,921)	< 0,001	0,5370
Нейтрофилы, %	> 68	61,1 (35,7–82,7)	85,2 (66,3–95,8)	75,6	0,751 (0,600–0,868)	0,001	0,4630
Эозинофилы, × 10 ⁹ / л	≤ 0,126	83,3 (58,6–96,4)	55,6 (35,3–74,5)	66,7	0,677 (0,521–0,809)	0,030	0,3889
Эозинофилы, %	≤ 1,2	83,3 (58,6–96,4)	63,0 (42,4–80,6)	71,1	0,751 (0,600–0,868)	0,001	0,4630
Тромбоциты, × 10 ⁹ / л	> 205	77,8 (52,4–93,6)	70,4 (49,8–86,2)	73,3	0,718 (0,564–0,842)	0,007	0,4815
ОНЛ	> 2,75	66,7 (41,0–86,7)	74,1 (53,7–88,9)	71,1	0,731 (0,579–0,853)	0,003	0,4074
ОТЛ	> 116	61,1 (35,7–82,7)	77,8 (57,7–91,4)	71,1	0,678 (0,522–0,809)	0,036	0,3889
MIF, нг / мл	> 2,24	72,2 (46,5–90,3)	70,4 (49,8–86,2)	71,1	0,740 (0,587–0,859)	0,002	0,4259

Примечание: ДЧ – диагностическая чувствительность; ДС – диагностическая специфичность; ДЭ – диагностическая эффективность; ДИ – доверительный интервал; AUC – площадь под ROC-кривой; ОНЛ – отношение абсолютного количества нейтрофилов к абсолютному количеству лимфоцитов; ОТЛ – отношение абсолютного количества тромбоцитов к абсолютному количеству лимфоцитов; MIF – фактор, ингибирующий миграцию макрофагов; p (vs AUC = 0,5) – уровень значимости, при котором оцениваемая AUC статистически значимо отличается от неинформативного значения 0,5.

Note. p (vs AUC = 0.5) was considered as the significance level corresponding to statistically significant difference between the estimated AUC and 0.5.

вать устойчивость к терапии ГКС у пациентов с ХОБЛ с чувствительностью 83,3 %, специфичностью 77,8 % и ДЭ 80,0 % (табл. 5). Прогностическая ценность положительного результата для данной модели составила 71,4 %, прогностическая ценность отрицательного результата – 87,5 %; индекс Юдена – 0,6111. Данная модель прогнозирует устойчивость к терапии ГКС (Y1) у пациентов с ХОБЛ на основании относительного количества эозинофилов крови (X1), отношения абсолютных количеств нейтрофилов к лимфоцитам (X2) и отношения абсолютных количеств тромбоцитов к лимфоцитам (X3). Здесь X1, X2, X3 – предикторные переменные; числа перед ними – коэффициенты регрессии; \exp ($\approx 2,718$) – основание натурального логарифма; $-1,5113$ – свободный член, точка, в которой линия регрессии пересекает ось Y. Оптимальное пороговое значение вероятности для чувствительности и специфичности данной модели составляет 0,3774. Это значит, что если $Y1 > 0,3774$, то существует высокая вероятность устойчивости к терапии ГКС, а если $Y1 \leq 0,3774$, то имеется высокая вероятность чувствительности к ГКС.

$$Y1 = \frac{\exp(-1,5113 - 0,4384 \times X1 + 0,4192 \times X2 + 0,0043 \times X3)}{1 + \exp(-1,5113 - 0,4384 \times X1 + 0,4192 \times X2 + 0,0043 \times X3)} \quad (1)$$

Таблица 5
Параметры уравнения логистической регрессии
Table 5
Results of logistic regression analysis

Факторный признак	Коэффициент регрессии	Стандартная ошибка	ОШ	95%-ный ДИ ОШ
Эозинофилы, %	-0,4384	0,245	1,55	0,96–2,51
ОНЛ	0,4192	0,292	0,66	0,37–1,17
ОТЛ	0,0043	0,009	1,00	0,98–1,01

Примечание: ОШ – отношение шансов; ДИ – доверительный интервал; ОНЛ – отношение абсолютного количества нейтрофилов к абсолютному количеству лимфоцитов; ОТЛ – отношение абсолютного количества тромбоцитов к абсолютному количеству лимфоцитов.

Предикторные переменные были оценены на коллинеарность (независимость). Как известно, параметры в уравнении логистической регрессии должны быть независимы друг от друга, т. е. между ними должна отсутствовать сильная корреляционная связь. Коллинеарные переменные вносят в модель одинаковую информацию, в связи с чем в модель обычно включается только та из них, что обладает наиболее сильной связью с переменной отклика [17]. В разработанной модели случаев сильной корреляционной связи между предикторными переменными не выявлено (табл. 6).

В оцениваемой регрессионной модели $-2\log Likelihood$ (удвоенный логарифм функции правдоподобия со знаком минус) из уравнения, содержащего только константу (начальный $-2LL$), составляет 60,6. После добавления факторных признаков $-2LL$ снижается до 48,3. Снижение, или «качество приближения», составляет 12,3 ($p = 0,007$). R_2 Кокса и Снелла составил 0,239, R_2 Найджелкерка = 0,323.

Для проверки согласованности модели с исходными данными применялся критерий согласия Хосмера–Лемешова. Тест показывает уровень зна-

Таблица 6
Коэффициенты корреляции (R) между предикторными переменными, вошедшими в математическую модель прогнозирования резистентности Y1 к глюкокортикостероидам
Table 6
Correlation coefficients (R) between predictive values included in the Y1 predictive model of steroid resistance

Факторный признак	Эозинофилы, %	ОНЛ	ОТЛ
Эозинофилы, %	–	-0,144	0,016
ОНЛ	-0,144	–	0,664*
ОТЛ	0,016	0,664*	–

Примечание: ОНЛ – отношение абсолютного количества нейтрофилов к абсолютному количеству лимфоцитов; ОТЛ – отношение абсолютного количества тромбоцитов к абсолютному количеству лимфоцитов; * – $p < 0,05$.

Note. *, $p < 0.05$.

Таблица 7
Оценка модели Y1 по критерию Хосмера–Лемешова
Table 7
Hosmer–Lemeshow test for Y1 model

Классификация	Тест на пригодность
χ^2	9,9
Число степеней свободы	7
Уровень значимости	0,1917

Таблица 8
Характеристики ROC-кривой для логистической
регрессионной модели Y1
Table 8
ROC-analysis for Y1 logistic regression model

Площадь под ROC-кривой	0,805
Стандартная ошибка	0,0707
95%-ный ДИ	0,659–0,907
p (vs AUC = 0,5)	< 0,001

Примечание: ДИ – доверительный интервал; p (vs AUC = 0,5) – уровень значимости, при котором оцениваемая площадь под ROC-кривой статистически значимо отличается от неинформативного значения 0,5.
Note. p (vs AUC = 0,5) was considered as the significance level corresponding to statistically significant difference between the estimated area under the ROC curve and 0.5.

чимости, при котором не отвергается гипотеза о допустимо незначительных расхождениях между фактической и модельной классификацией «ГКС-резистентные пациенты с ХОБЛ – ГКС-чувствительные пациенты с ХОБЛ» (табл. 7). В данном случае для представленной модели достигнутый уровень значимости для этого критерия $p > 0,05$, т. е. принимается нулевая гипотеза о согласии модели и реальных данных.

Для оценки эффективности созданной модели Y1 был проведен ROC-анализ (табл. 8) с построением кривой (рис. 1). Вычисленная площадь под ROC-кривой (AUC) составила 0,805, что соответствует очень хорошему качеству созданной модели согласно экспертной шкале [18].

Введение в анализ бинарной логистической регрессии фактора MIF с пошаговым включением других определяемых показателей, существенно влияющих на результирующую переменную, позволило составить регрессионное уравнение Y2 (2) (табл. 9). В него вошли относительное количество эозинофилов, ОТЛ и концентрация MIF в плазме крови. Данная модель прогнозирует вероятность сниженного ответа на ГКС (Y2) у пациентов с ХОБЛ на основании относительного количества эозинофилов (X1), отношения абсолютного количества тромбоцитов к лимфоцитам (X2) и концентрации MIF (X3). Оптимальное пороговое значение вероятности для чувствительности и специфичности данной модели составляет 0,4629. Это значит, что если $Y2 > 0,4629$, то вероятность сниженного ответа на ГКС высокая, а если $Y2 \leq 0,4629$, то вероятность сниженного ответа на ГКС низкая.

$$Y2 = \frac{\exp(-2,5863 - 0,7922 \times X1 + 0,0187 \times X2 + 0,4227 \times X3)}{1 + \exp(-2,5863 - 0,7922 \times X1 + 0,0187 \times X2 + 0,4227 \times X3)} \quad (2)$$

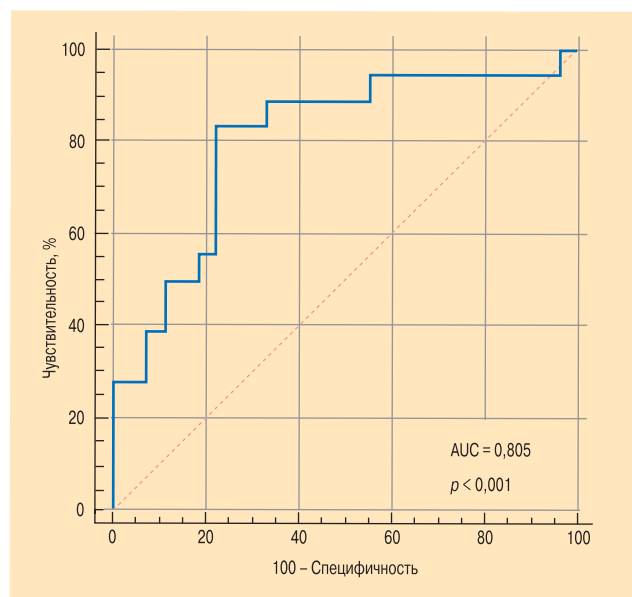


Рис. 1. График ROC-кривой для оценки эффективности модели логистической регрессии Y1

Примечание: AUC – площадь под ROC-кривой.

Figure 1. ROC curves to evaluate the effectiveness of Y1 logistic regression model

Таблица 9
Параметры уравнения логистической регрессии Y2
Table 9
Results of Y2 logistic regression analysis

Факторный признак	Коэффициент регрессии	Стандартная ошибка	ОШ	95%-ный ДИ ОШ
Эозинофилы, %	-0,7922	0,313	2,21	1,19–4,08
ОТЛ	0,0187	0,009	0,98	0,96–1,00
MIF	0,4227	0,145	0,66	0,49–0,87

Примечание: ОШ – отношение шансов; ДИ – доверительный интервал ОТЛ – отношение абсолютного количества тромбоцитов к абсолютному количеству лимфоцитов; MIF – фактор, ингибирующий миграцию макрофагов.

Для суждения о предсказательной эффективности модели при полученном уровне порога классификации (0,4629) определены ее диагностические характеристики. В классификационной таблице (табл. 10) реальные показатели принадлежности к группам чувствительных и резистентных к ГКС пациентов противопоставляются предсказанным на основе полученной модели.

Как видно из табл. 10, при использовании полученного регрессионного уравнения Y2 24 (88,9 %) пациента из 27 правильно отнесены к группе ГКС-чувствительных. При этом 15 из 18 (83,3 %) больных верно определены в группу ГКС-резистентных. Таким образом, специфичность метода составила 88,9 %, чувствительность – 83,3 %. Общий процент правильно классифицированных случаев ответа на ГКС на основе результатов применения данного уравнения составил 86,7 %, т. е. из общего числа пациентов 86,7 % были правильно отнесены в соответствующие группы по характеру ответа на терапию ГКС. Прогностическая ценность положительного результата для данной модели составила 83,3 %, прогностическая ценность отрицательного результата – 88,9 %, индекс Юдена – 0,7222.

Таблица 10
Классификационная таблица логистической регрессионной модели Y2
Table 10
Classification of Y2 logistic regression model

Наблюдаемый показатель		Предсказано на основе уравнения		Процент правильно классифицированных случаев	
		чувствительность	резистентность		
Действительный ответ на ГКС	Чувствительность (n = 27)	24	3	88,9	Специфичность
	Резистентность (n = 18)	3	15	83,3	Чувствительность
Суммарный процентный показатель				86,7	Эффективность

Примечание: ГКС – глюкокортикостероиды.

В оцениваемой регрессионной модели отрицательное удвоенное значение логарифма функции правдоподобия из уравнения, содержащего только константу (начальный $-2LL$), составляет 60,6. После добавления переменных влияния $-2LL$ снижается до 37,6. Снижение, или «качество приближения», составляет 23,0 ($p < 0,001$). R_2 Кокса и Снелла составил 0,400, R_2 Найджелкерка – 0,540.

Для проверки согласованности модели с исходными данными применялся критерий согласия Хосмера–Лемешова. В случае модели Y2 достигнутый уровень значимости p для этого критерия составил $> 0,05$, т. е. разработанная модель хорошо согласуется с реальными данными (табл. 11).

Предикторные переменные были оценены на коллинеарность. В разработанной модели Y2 случаев сильной корреляционной связи между предикторными переменными не выявлено (табл. 12). Это значит, что все переменные обоснованно включены в уравнение логистической регрессии Y2.

Оценка эффективности модели Y2 проводилась при помощи ROC-анализа (табл. 13) с построением

кривой (рис. 2). Площадь под ROC-кривой составила 0,889, что соответствует очень хорошему качеству созданной модели [18].

Для оценки работоспособности (обоснованности) обоих разработанных моделей применялся метод «складного ножа» [17]. По данным такой проверки показано, что построенные логистические модели работают устойчиво.

Таблица 13
Характеристики ROC-кривой для логистической регрессионной модели Y2
Table 13
ROC-analysis for Y2 logistic regression model

Площадь под ROC-кривой	0,889
Стандартная ошибка	0,0559
95%-ный ДИ	0,727–0,954
p (vs AUC = 0,5)	$< 0,0001$

Примечание: ДИ – доверительный интервал; p (vs AUC = 0,5) – уровень значимости, при котором оцениваемая площадь под ROC-кривой статистически значимо отличается от неинформативного значения 0,5.

Note. p (vs AUC = 0,5) was considered as the significance level corresponding to statistically significant difference between the estimated area under the ROC curve and 0.5.

Таблица 11
Оценка модели Y2 по критерию Хосмера–Лемешова
Table 11
Hosmer–Lemeshow test for Y2 model

Классификация	Тест на пригодность
χ^2	4,2
Число степеней свободы	7
Уровень значимости	0,7529

Таблица 12
Коэффициенты корреляции (R) между предикторными переменными, вошедшими в математическую модель прогнозирования устойчивости к глюкокортикостероидам Y2
Table 12

Correlation coefficients (R) between predictive values included in the Y2 predictive model of steroid resistance

Показатель	Эозинофилы, %	ОТЛ	MIF, нг / мл
Эозинофилы, %	–	0,016	–0,128
ОТЛ	0,016	–	0,101
MIF, нг / мл	–0,128	0,101	–

Примечание: ОТЛ – отношение абсолютного количества тромбоцитов к абсолютному количеству лимфоцитов; MIF – фактор, ингибирующий миграцию макрофагов; * – $p < 0,05$.
Notes. *, $p < 0,05$.

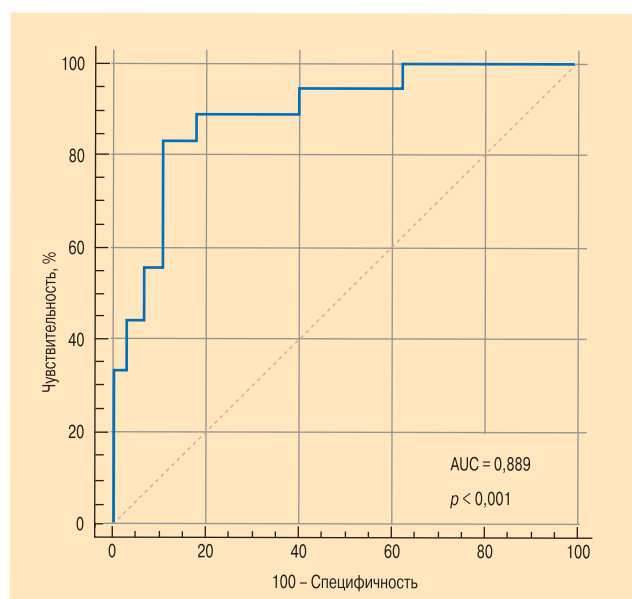


Рис. 2. График ROC-кривой для оценки эффективности модели логистической регрессии Y2
Примечание: AUC – площадь под ROC-кривой.
Figure 2. ROC curves to evaluate the effectiveness of Y2 logistic regression model

По результатам проведенного исследования показано, что деление пациентов на ГКС-резистентных и ГКС-чувствительных на основании способности ГКС ингибировать продукцию IL-8 альвеолярными макрофагами на 50 % имеет не только теоретическое обоснование, но и практическое значение. Так, у ГКС-чувствительных пациентов наблюдается лучший ответ на системные ГКС, оцененный по разнице значения САТ, отражающего качество жизни после проведенного 2-недельного курса терапии, чем у ГКС-резистентных пациентов. Подробное описание процедуры выявления резистентных к ГКС пациентов, основанной на исследовании цитокин-секретирующей функции альвеолярных макрофагов под влиянием ГКС, приводилось ранее [16]. Аналогичный подход использовался и в других работах [19].

В ходе исследования установлено, что относительное количество эозинофилов крови выше у чувствительных к ГКС пациентов, чем у резистентных больных, что согласуется с результатами, полученными в других лабораториях [7, 8]. Абсолютное и относительное количество эозинофилов крови среди всех анализируемых параметров имели самую высокую чувствительность (83,3 %) для определения устойчивости к ГКС. Вместе с тем эти показатели обладали относительно низкой специфичностью (55,6 и 63,0 % соответственно). Отмечено, что у пациентов с ХОБЛ, принимавших иГКС, при количестве эозинофилов ≥ 2 % наблюдалась меньшая интенсивность ежегодного снижения объема форсированного выдоха за 1-ю секунду, измеренного после теста с бронходилататором, по сравнению с количеством эозинофилов < 2 % [7]. Прием иГКС пациентами, уровень эозинофилов у которых составил $> 2,4$ и $\leq 2,4$ %, а индекс курения — ≤ 46 пачко-лет, приводил к снижению числа обострений, в то время как при уровне эозинофилов крови $\leq 2,4$ % и индексе курения > 46 пачко-лет в результате приема этих препаратов не наблюдалось изменения числа обострений [20]. Назначение иГКС при одновременно частых обострениях в анамнезе (≥ 2) и высоком уровне эозинофилов в крови (≥ 300 клеток в 1 мкл), приводило к снижению частоты обострений и замедлению прогрессирующего снижения функции легких [21].

По данным исследования продемонстрировано, что отношение нейтрофилов к лимфоцитам (ОНЛ) существенно различается у чувствительных и резистентных к ГКС пациентов. В последние годы ОНЛ активно изучается в качестве системного воспалительного маркера ХОБЛ, в частности благодаря возможности его быстрого, широкодоступного и невысокого по стоимости определения при проведении общего анализа крови. В литературе описано прогностическое значение ОНЛ в качестве маркера обострений ХОБЛ, предиктора риска госпитализации и повторной госпитализации. ОНЛ у пациентов с ХОБЛ также может использоваться при прогнозировании обострений бактериальной этиологии, сопутствующих заболеваний и риска летального

исхода [13]. Однако связь ОНЛ с устойчивостью к терапии ГКС ранее не изучалась. Вместе с тем в литературе можно встретить наблюдения большей частью описательного характера. Так, у лиц, принимавших системные ГКС в течение 14 дней до проведения общего анализа крови, ОНЛ было существенно выше, чем у пациентов, не использовавших эти препараты [22]. В исследовании [23] установлено, что иГКС чаще назначаются пациентам с высоким значением ОНЛ по сравнению с низким показателем.

Низкое количество лимфоцитов отражает усиление тяжести воспалительной реакции. Использование этого параметра в совокупности с абсолютным количеством тромбоцитов позволяет рассчитать относительный показатель — ОТЛ. Известно, что ОТЛ выше у пациентов с обострением ХОБЛ, по сравнению с лицами со стабильным течением заболевания и здоровыми людьми [24, 25]. Установлено, что значение ОТЛ ≥ 235 позволяет прогнозировать наступление смерти в течение 90 дней у пациентов с ХОБЛ, госпитализированных в связи с обострением основного заболевания, с чувствительностью 63 % и специфичностью 74 % [14]. Согласно полученным результатам показано, что ОТЛ ниже у ГКС-чувствительных пациентов по сравнению с ГКС-резистентными. При этом значения ОТЛ выше порогового 116 предсказывают устойчивость к терапии ГКС у пациентов с ХОБЛ с чувствительностью 61,1 % и специфичностью 77,8 %.

MIF является провоспалительным цитокином, который подавляет миграцию макрофагов и регулирует их функции [26]. Он способен стимулировать экспрессию и продукцию других провоспалительных белков, включая IL-1 β , -2, -6, -8, интерферон- γ и матриксные металлопротеиназы [10]. Однако широкую известность MIF получил за счет способности препятствовать функциям ГКС [10]. MIF может подавлять IkB α , экспрессия которого индуцируется ГКС. IkB α , как известно, является цитозольным ингибитором ядерного фактора- κ B [27]. Кроме того, MIF оказывает супрессирующее действие на МКР-1, которая, в свою очередь, ингибирует путем дефосфорилирования провоспалительные ферменты, участвующие во внутриклеточной передаче сигнала — ERK1/2, JNK и p38 митоген-активируемую протеинкиназу [28]. В лаборатории уровень MIF был выше у ГКС-резистентных больных ХОБЛ, чем у ГКС-чувствительных пациентов. Обнаружено также увеличение концентрации MIF в сыворотке крови и цитоплазме мононуклеарных клеток крови у ГКС-резистентных пациентов с системной красной волчанкой по сравнению с ГКС-чувствительными больными [29]. В литературе отсутствуют сведения о чувствительности и специфичности MIF в качестве прогностического маркера устойчивости к ГКС. Согласно данным проведенного исследования, определение концентрации MIF имеет ДЧ 72,2 % и ДС 70,4 % для оценки этого состояния.

Для увеличения ДЭ в оценке ответа на терапию ГКС использовался подход, основанный на созда-

нии регрессионного уравнения, которое включает несколько параметров одновременно. Подобный прием используется для повышения ДЭ используемых маркеров. Так, в исследовании *C. Yao et al.* [30] при сочетании 3 показателей (ОНЛ, ОТЛ и С-реактивного белка) существенно повышалась ДЧ в предсказании госпитальной смертности, обусловленной обострением ХОБЛ. В работе [31] повышенный уровень 3 биомаркеров одновременно позволял с большей вероятностью прогнозировать наступление смерти в течение 5 лет у пациентов с ХОБЛ, чем использование этих параметров по отдельности.

По результатам настоящего исследования предложены 2 математические модели, позволяющие прогнозировать устойчивость к ГКС. Одна модель построена на показателях общего анализа крови и не требует серьезных финансовых затрат. Она имеет чувствительность 83,3 %, специфичность 77,8 % и ДЭ 80,0 %. В другую модель, помимо параметров общего анализа крови, также вошел уровень MIF в плазме крови. Это привело к увеличению специфичности метода до 88,9 % и его диагностической точности до 86,7 %. Чувствительность способа выявления резистентных больных сохранилась на прежнем уровне — 83,3 %. Вместе с тем несколько увеличилась стоимость метода прогнозирования устойчивости к ГКС, временные и трудозатраты, поскольку требуется дополнительно определить концентрацию MIF в плазме крови, что достигается путем проведения ИФА.

Заключение

По результатам изложенного сделаны следующие выводы:

- для резистентных к терапии ГКС пациентов с ХОБЛ по сравнению с ГКС-чувствительными характерно повышение абсолютного и относительного количества нейтрофилов, абсолютного количества тромбоцитов, ОНЛ и ОТЛ, уровня MIF, снижение абсолютного и относительного количества эозинофилов, относительного количества лимфоцитов. Для значений этих параметров установлена умеренная корреляционная связь с устойчивостью к ГКС;
- тесты на определение абсолютного и относительного количества эозинофилов, относительного количества лимфоцитов, значения которых ниже пороговых значений, а также результаты определения абсолютного и относительного количества нейтрофилов, абсолютного количества тромбоцитов, ОНЛ и ОТЛ, уровня MIF, превышающие пороговые значения, являются диагностически значимыми при прогнозировании устойчивости к ГКС у пациентов с ХОБЛ. ДЭ этих тестов составляет 66,7–80,0 %;
- в математической модели прогнозирования устойчивости к терапии ГКС при ХОБЛ с использованием рутинных тестов общего анализа крови одновременно учтены результаты определения относительного количества эозинофилов, ОНЛ

и ОТЛ. Чувствительность созданной модели составила 83,3 %, специфичность — 77,8 %, ДЭ — 80,0 %;

- при использовании результатов определения уровня MIF в плазме крови повышается точность оценки чувствительности к ГКС. Разработана математическая модель, которая включает результаты измерения относительного количества эозинофилов, отношения абсолютных количеств тромбоцитов к лимфоцитам и уровня MIF. Она обладает большей ДЭ (86,7 %), чем предыдущая модель. Ее ДЧ и ДС составляют 83,3 и 88,9 % соответственно.

Конфликт интересов

Авторы подтверждают отсутствие конфликта интересов, связанных с настоящей рукописью.

Работа выполнена в рамках задания 2.56 «Изучить молекулярно-клеточные механизмы развития стероидорезистентности у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких для оптимизации их лечения» Белорусской государственной программы научных исследований «Фундаментальные и прикладные науки — медицине» (2017–2019).

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest in relation to this publication. The study was done within the framework of Belarus State Research Program «Fundamental and Applied Sciences for Medicine», 2017–2019.

Список сокращений

ГКС — глюкокортикостероиды
 ДИ — доверительный интервал
 ДС — диагностическая специфичность
 ДЧ — диагностическая чувствительность
 ДЭ — диагностическая эффективность
 иГКС — ингаляционные глюкокортикостероиды
 ИФА — иммуноферментный анализ
 ОНЛ — отношение абсолютного количества нейтрофилов к абсолютному количеству лимфоцитов
 ОТЛ — отношение абсолютного количества тромбоцитов к абсолютному количеству лимфоцитов
 ОФВ₁ — объем форсированного выдоха за 1-ю секунду
 ОШ — отношение шансов
 ФЖЕЛ — форсированная жизненная емкость легких
 ХОБЛ — хроническая обструктивная болезнь легких
 AUC — площадь под ROC-кривой
 CAT (COPD Assessment Test) — оценочный тест по ХОБЛ
 GCP-2/CXCL6 — гранулоцитарный хемотаксический протеин-2
 GOLD (Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease) — Глобальная стратегия диагностики, лечения и профилактики ХОБЛ
 Ig — иммуноглобулин
 IL — интерлейкин
 MIF — фактор, ингибирующий миграцию макрофагов
 МКР-1 — фосфатаза-1 митоген-активируемой протеинкиназы
 ROC-анализ — метод построения характеристических кривых
 TNF-α — фактор некроза опухоли-α

Литература

- Vestbo J., Edwards L.D., Scanlon P.D. et al. Changes in forced expiratory volume in 1 second over time in COPD. *N. Engl. J. Med.* 2011; 365 (13): 1184–1192. DOI: 10.1056/NEJMoa1105482.
- Calverley P., Pauwels R., Vestbo J. et al. Combined salmeterol and fluticasone in the treatment of chronic obstructive pulmonary disease: a randomised controlled trial. *Lancet.* 2003; 361 (9356): 449–456. DOI: 10.1016/S0140-6736(03)12459-2.
- Nannini L.J., Poole P., Milan S.J., Kesterton A. Combined corticosteroid and long-acting beta(2)-agonist in one inhaler versus inhaled corticosteroids alone for chronic obstructive pulmonary disease. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2013; (8): CD006826. DOI: 10.1002/14651858.CD006826.pub2.
- Kew K.M., Seniukovich A. Inhaled steroids and risk of pneumonia for chronic obstructive pulmonary disease. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2014; (3): CD010115. DOI: 10.1002/14651858.CD010115.pub2.
- Saha S., Brightling C.E. Eosinophilic airway inflammation in COPD. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2006; 1 (1): 39–47. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2706606/>
- Tashkin D.P., Wechsler M.E. Role of eosinophils in airway inflammation of chronic obstructive pulmonary disease. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2018; 13: 335–349. DOI: 10.2147/COPD.S152291.
- Barnes N.C., Sharma R., Lettis S., Calverley P.M. Blood eosinophils as a marker of response to inhaled corticosteroids in COPD. *Eur. Respir. J.* 2016; 47 (5): 1374–1382. DOI: 10.1183/13993003.01370-2015.
- Siddiqui S.H., Guasconi A., Vestbo J. et al. Blood eosinophils: a biomarker of response to extrafine beclomethasone/formoterol in chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2015; 192 (4): 523–525. DOI: 10.1164/rccm.201502-0235LE.
- Selders G.S., Fetz A.E., Radic M.Z., Bowlin G.L. An overview of the role of neutrophils in innate immunity, inflammation and host-biomaterial integration. *Regen. Biomater.* 2017; 4 (1): 55–68. DOI: 10.1093/rb/rbw041.
- Calandra T., Roger T. Macrophage migration inhibitory factor: a regulator of innate immunity. *Nat. Rev. Immunol.* 2003; 3 (10): 791–800. DOI: 10.1038/nri1200.
- Кадушкин А.Г., Таганович А.Д. Молекулярные механизмы формирования стероидорезистентности у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких. *Пульмонология.* 2016; 26 (6): 736–747. DOI: 10.18093/0869-0189-2016-26-6-736-747.
- Arman M., Payne H., Ponomarev T., Brill A. Role of platelets in inflammation. In: Kerrigan S.W., Moran N., eds. *The Non-Thrombotic Role of Platelets in Health and Disease.* Intech Publishers; 2015: 37–53. DOI: 10.5772/60536.
- Paliogiannis P., Fois A.G., Sotgia S. et al. Neutrophil to lymphocyte ratio and clinical outcomes in COPD: recent evidence and future perspectives. *Eur. Respir. Rev.* 2018; 27 (147): pii: 170113. DOI: 10.1183/16000617.0113-2017.
- Kumar P., Law S., Sriram K.B. Evaluation of platelet lymphocyte ratio and 90-day mortality in patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *J. Thorac. Dis.* 2017; 9 (6): 1509–1516. DOI: 10.21037/jtd.2017.05.77.
- Jones P.W., Harding G., Berry P. et al. Development and first validation of the COPD Assessment Test. *Eur. Respir. J.* 2009; 34 (3): 648–654. DOI: 10.1183/09031936.00102509.
- Кадушкин А.Г., Таганович А.Д., А.А. Арабей и др. Чувствительность к глюкокортикоидам и гетерогенность ответа клеток *in vitro* у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких. *Пульмонология.* 2018; 28 (5): 558–566. DOI: 10.18093/0869-0189-2018-28-5-558-566.
- Lang T. Documenting research in scientific articles: Guidelines for authors: 3. Reporting multivariate analyses. *Chest.* 2007; 131 (2): 628–632. DOI: 10.1378/chest.06-2088.
- Youngstrom E.A. A primer on receiver operating characteristic analysis and diagnostic efficiency statistics for pediatric psychology: we are ready to ROC. *J. Pediatr. Psychol.* 2014; 39 (2): 204–221. DOI: 10.1093/jpepsy/jst062.
- Higham A., Booth G., Lea S. et al. The effects of corticosteroids on COPD lung macrophages: a pooled analysis. *Respir. Res.* 2015; 16 (1): 98. DOI: 10.1186/s12931-015-0260-0.
- Hinds D.R., DiSantostefano R.L., Le H.V., Pascoe S. Identification of responders to inhaled corticosteroids in a chronic obstructive pulmonary disease population using cluster analysis. *BMJ Open.* 2016; 6 (6): e010099. DOI: 10.1136/bmjopen-2015-010099.
- Calverley P.M.A., Tetzlaff K., Vogelmeier C. et al. Eosinophilia, frequent exacerbations, and steroid response in chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2017; 196 (9): 1219–1221. DOI: 10.1164/rccm.201612-2525LE.
- Sørensen A.K., Holmgaard D.B., Mygind L.H. et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio, calprotectin and YKL-40 in patients with chronic obstructive pulmonary disease: correlations and 5-year mortality — a cohort study. *J. Inflamm. (Lond).* 2015; 12: 20. DOI: 10.1186/s12950-015-0064-5.
- Lee H., Um S.J., Kim Y.S. et al. Association of the neutrophil-to-lymphocyte ratio with lung function and exacerbations in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *PLoS One.* 2016; 11 (6): e0156511. DOI: 10.1371/journal.pone.0156511.
- Karadeniz G., Aktoğlu S., Erer O.F. et al. Predictive value of platelet-to-lymphocyte ratio in exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *Biomark. Med.* 2016; 10 (7): 701–710. DOI: 10.2217/bmm-2016-0046.
- Kurtipek E., Bekci T.T., Kesli R. et al. The role of neutrophil-lymphocyte ratio and platelet-lymphocyte ratio in exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *J. Pak. Med. Assoc.* 2015; 65 (12): 1283–1287.
- Richard V., Kindt N., Saussez S. Macrophage migration inhibitory factor involvement in breast cancer (Review). *Int. J. Oncol.* 2015; 47 (5): 1627–1633. DOI: 10.3892/ijo.2015.3185.
- Daun J.M., Cannon J.G. Macrophage migration inhibitory factor antagonizes hydrocortisone-induced increases in cytosolic I κ B α . *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2000; 279 (3): R1043–R1049. DOI: 10.1152/ajpregu.2000.279.3.R1043.
- Roger T., Chanson A.L., Knaup-Reymond M., Calandra T. Macrophage migration inhibitory factor promotes innate immune responses by suppressing glucocorticoid-induced expression of mitogen-activated protein kinase phosphatase-1. *Eur. J. Immunol.* 2005; 35 (12): 3405–3413. DOI: 10.1002/eji.200535413.
- Wang F.F., Zhu L.A., Zou Y.Q. et al. New insights into the role and mechanism of macrophage migration inhibitory factor in steroid-resistant patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res. Ther.* 2012; 14 (3): R103. DOI: 10.1186/ar3828.
- Yao C., Liu X., Tang Z. Prognostic role of neutrophil-lymphocyte ratio and platelet-lymphocyte ratio for hospital mortality in patients with AECOPD. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2017; 12: 2285–2290. DOI: 10.2147/COPD.S141760.
- Stolz D., Meyer A., Rakic J. et al. Mortality risk prediction in COPD by a prognostic biomarker panel. *Eur. Respir. J.* 2014; 44 (6): 1557–1570. DOI: 10.1183/09031936.00043814.

Поступила 18.09.18

References

- Vestbo J., Edwards L.D., Scanlon P.D. et al. Changes in forced expiratory volume in 1 second over time in COPD. *N. Engl. J. Med.* 2011; 365 (13): 1184–1192. DOI: 10.1056/NEJMoa1105482.
- Calverley P., Pauwels R., Vestbo J. et al. Combined salmeterol and fluticasone in the treatment of chronic obstructive pulmonary disease: a randomised controlled trial. *Lancet.* 2003; 361 (9356): 449–456. DOI: 10.1016/S0140-6736(03)12459-2.
- Nannini L.J., Poole P., Milan S.J., Kesterton A. Combined corticosteroid and long-acting beta(2)-agonist in one inhaler versus inhaled corticosteroids alone for chronic obstructive pulmonary disease. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2013; (8): CD006826. DOI: 10.1002/14651858.CD006826.pub2.
- Kew K.M., Seniukovich A. Inhaled steroids and risk of pneumonia for chronic obstructive pulmonary disease. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2014; (3): CD010115. DOI: 10.1002/14651858.CD010115.pub2.
- Saha S., Brightling C.E. Eosinophilic airway inflammation in COPD. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2006; 1 (1): 39–47. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2706606/>
- Tashkin D.P., Wechsler M.E. Role of eosinophils in airway inflammation of chronic obstructive pulmonary disease. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2018; 13: 335–349. DOI: 10.2147/COPD.S152291.
- Barnes N.C., Sharma R., Lettis S., Calverley P.M. Blood eosinophils as a marker of response to inhaled corticosteroids in COPD. *Eur. Respir. J.* 2016; 47 (5): 1374–1382. DOI: 10.1183/13993003.01370-2015.
- Siddiqui S.H., Guasconi A., Vestbo J. et al. Blood eosinophils: a biomarker of response to extrafine beclomethasone/formoterol in chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2015; 192 (4): 523–525. DOI: 10.1164/rccm.201502-0235LE.
- Selders G.S., Fetz A.E., Radic M.Z., Bowlin G.L. An overview of the role of neutrophils in innate immunity, inflammation and host-biomaterial integration. *Regen. Biomater.* 2017; 4 (1): 55–68. DOI: 10.1093/rb/rbw041.
- Calandra T., Roger T. Macrophage migration inhibitory factor: a regulator of innate immunity. *Nat. Rev. Immunol.* 2003; 3 (10): 791–800. DOI: 10.1038/nri1200.
- Kadushkin A.G., Taganovich A.D. Molecular mechanisms of corticosteroid resistance in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Pul'monologiya.* 2016; 26 (6): 736–747. DOI: 10.18093/0869-0189-2016-26-6-736-747 (in Russian).
- Arman M., Payne H., Ponomaryov T., Brill A. Role of platelets in inflammation. In: Kerrigan S.W., Moran N., eds. *The Non-Thrombotic Role of Platelets in Health and Disease.* Intech Publishers; 2015: 37–53. DOI: 10.5772/60536.
- Paliogiannis P., Fois A.G., Sotgia S. et al. Neutrophil to lymphocyte ratio and clinical outcomes in COPD: recent evidence and future perspectives. *Eur. Respir. Rev.* 2018; 27 (147): pii: 170113. DOI: 10.1183/16000617.0113-2017.
- Kumar P., Law S., Sriram K.B. Evaluation of platelet lymphocyte ratio and 90-day mortality in patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *J. Thorac. Dis.* 2017; 9 (6): 1509–1516. DOI: 10.21037/jtd.2017.05.77.
- Jones P.W., Harding G., Berry P. et al. Development and first validation of the COPD Assessment Test. *Eur. Respir. J.* 2009; 34 (3): 648–654. DOI: 10.1183/09031936.00102509.
- Kadushkin A.G., Taganovich A.D., Arabey A.A. et al. Sensitivity to glucocorticoids and heterogeneity of in vitro cell response in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Pul'monologiya.* 2018; 28 (5): 558–566. DOI: 10.18093/0869-0189-2018-28-5-558-566 (in Russian).
- Lang T. Documenting research in scientific articles: Guidelines for authors: 3. Reporting multivariate analyses. *Chest.* 2007; 131 (2): 628–632. DOI: 10.1378/chest.06-2088.
- Youngstrom E.A. A primer on receiver operating characteristic analysis and diagnostic efficiency statistics for pediatric psychology: we are ready to ROC. *J. Pediatr. Psychol.* 2014; 39 (2): 204–221. DOI: 10.1093/jpepsy/jst062.
- Higham A., Booth G., Lea S. et al. The effects of corticosteroids on COPD lung macrophages: a pooled analysis. *Respir. Res.* 2015; 16 (1): 98. DOI: 10.1186/s12931-015-0260-0.
- Hinds D.R., DiSantostefano R.L., Le H.V., Pascoe S. Identification of responders to inhaled corticosteroids in a chronic obstructive pulmonary disease population using cluster analysis. *BMJ Open.* 2016; 6 (6): e010099. DOI: 10.1136/bmjopen-2015-010099.
- Calverley P.M.A., Tetzlaff K., Vogelmeier C. et al. Eosinophilia, frequent exacerbations, and steroid response in chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2017; 196 (9): 1219–1221. DOI: 10.1164/rccm.201612-2525LE.
- Sørensen A.K., Holmgaard D.B., Mygind L.H. et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio, calprotectin and YKL-40 in patients with chronic obstructive pulmonary disease: correlations and 5-year mortality – a cohort study. *J. Inflamm. (Lond).* 2015; 12: 20. DOI: 10.1186/s12950-015-0064-5.
- Lee H., Um S.J., Kim Y.S. et al. Association of the neutrophil-to-lymphocyte ratio with lung function and exacerbations in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *PLoS One.* 2016; 11 (6): e0156511. DOI: 10.1371/journal.pone.0156511.
- Karadeniz G., Aktoğlu S., Erer O.F. et al. Predictive value of platelet-to-lymphocyte ratio in exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *Biomark. Med.* 2016; 10 (7): 701–710. DOI: 10.2217/bmm-2016-0046.
- Kurtipek E., Bekci T.T., Kesli R. et al. The role of neutrophil-lymphocyte ratio and platelet-lymphocyte ratio in exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *J. Pak. Med. Assoc.* 2015; 65 (12): 1283–1287.
- Richard V., Kindt N., Saussez S. Macrophage migration inhibitory factor involvement in breast cancer (Review). *Int. J. Oncol.* 2015; 47 (5): 1627–1633. DOI: 10.3892/ijo.2015.3185.
- Daun J.M., Cannon J.G. Macrophage migration inhibitory factor antagonizes hydrocortisone-induced increases in cytosolic $I\kappa B\alpha$. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2000; 279 (3): R1043–R1049. DOI: 10.1152/ajpregu.2000.279.3.R1043.
- Roger T., Chanson A.L., Knaup-Reymond M., Calandra T. Macrophage migration inhibitory factor promotes innate immune responses by suppressing glucocorticoid-induced expression of mitogen-activated protein kinase phosphatase-1. *Eur. J. Immunol.* 2005; 35 (12): 3405–3413. DOI: 10.1002/eji.200535413.
- Wang F.F., Zhu L.A., Zou Y.Q. et al. New insights into the role and mechanism of macrophage migration inhibitory factor in steroid-resistant patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res. Ther.* 2012; 14 (3): R103. DOI: 10.1186/ar3828.
- Yao C., Liu X., Tang Z. Prognostic role of neutrophil-lymphocyte ratio and platelet-lymphocyte ratio for hospital mortality in patients with AECOPD. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2017; 12: 2285–2290. DOI: 10.2147/COPD.S141760.
- Stolz D., Meyer A., Rakic J. et al. Mortality risk prediction in COPD by a prognostic biomarker panel. *Eur. Respir. J.* 2014; 44 (6): 1557–1570. DOI: 10.1183/09031936.00043814.

Received September 18, 2018