

Протективное действие беклометазона дипропионата при моделировании хронической обструктивной болезни легких

О.Н.Титова, Н.А.Кузубова, Е.С.Лебедева

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации: 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6–8

Информация об авторах

Титова Ольга Николаевна – д. м. н., профессор, директор Научно-исследовательского института пульмонологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (812) 338-78-40; ORCID: 0000-0003-4678-3904; e-mail: titova-on@mail.ru

Кузубова Наталия Анатольевна – д. м. н., заместитель директора Научно-исследовательского института пульмонологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (812) 338-66-16; ORCID: 0000-0002-1166-9717; e-mail: kuzubova@mail.ru

Лебедева Елена Сергеевна – к. б. н., ведущий научный сотрудник Научно-исследовательского института пульмонологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (812) 338-78-20; ORCID: 0000-0001-6887-0166; e-mail: osmelena@mail.ru

Резюме

Целью исследования явилась оценка протективного эффекта применения ингаляционного глюкокортикостероида беклометазона дипропионата (БДП) на экспериментальной модели хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ). **Материалы и методы.** Модель ХОБЛ воспроизводилась у крыс ($n = 30$) в процессе дискретного 60-дневного воздействия диоксида азота; 9 особей составили интактную группу. В течение 60 дней у крыс опытной группы ($n = 15$) проводились ингаляции БДП (50 мкг через день), контрольной ($n = 15$) – ингаляции плацебо. Определялись клеточный состав и цитокиноферментный профиль бронхоальвеолярной лаважной жидкости (БАЛЖ), содержание в ней секреторного иммуноглобулина А (sIgA) и сурфактантного протеина D (СП-D) методом ELISA. Выполнялось гистологическое и морфометрическое исследование легких. **Результаты.** В группе плацебо определялись характерные для ХОБЛ патоморфологические изменения в легких, возрастало содержание клеток воспаления и провоспалительных медиаторов в БАЛЖ, ухудшались показатели функциональной активности бронхоальвеолярного эпителия (СП-D, sIgA). В группе животных, получавших БДП, отмечалась отчетливая тенденция к снижению активности нейтрофильно-лимфоцитарного воспаления с нормализацией профиля провоспалительных цитокинов и ферментов в БАЛЖ; также наблюдалось восстановление морфологической структуры бронхоальвеолярного эпителия и улучшение показателей его функциональной активности. **Заключение.** Применение БДП у крыс с экспериментальной моделью ХОБЛ оказывало выраженное противовоспалительное действие, сопряженное с активацией процессов физиологической репарации в легких, проявляющейся восстановлением структурной, иммунобарьерной целостности и функциональной активности бронхоальвеолярного эпителия.

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь легких, ингаляционные глюкокортикостероиды, беклометазона дипропионат, воспаление.

Для цитирования: Титова О.Н., Кузубова Н.А., Лебедева Е.С. Протективное действие беклометазона дипропионата при моделировании хронической обструктивной болезни легких. *Пульмонология*. 2020; 30 (1): 61–68. DOI: 10.18093/0869-0189-2020-30-1-61-68

The protective effect of beclomethasone dipropionate in the modeling of chronic obstructive pulmonary disease

Ol'ga N. Titova, Nataliya A. Kuzubova, Elena S. Lebedeva

Academician I.P.Pavlov First Federal Saint-Petersburg State Medical University, Healthcare Ministry of Russia: ul. L'va Tolstogo 6–8, Saint-Petersburg, 197089, Russia

Author information

Ol'ga N. Titova, Doctor of Medicine, Professor, Director of Pulmonology Research Institute, Academician I.P.Pavlov First Federal Saint-Petersburg State Medical University, Healthcare Ministry of Russia; tel.: (812) 338-78-40; ORCID: 0000-0003-4678-3904; e-mail: titova-on@mail.ru

Nataliya A. Kuzubova, Doctor of Medicine, Deputy Director, Pulmonology Research Institute, Academician I.P.Pavlov First Federal Saint-Petersburg State Medical University, Healthcare Ministry of Russia; tel.: (812) 338-66-16; ORCID: 0000-0002-1166-9717; e-mail: kuzubova@mail.ru

Elena S. Lebedeva, Candidate of Biology, Leading Researcher, Pulmonology Research Institute, Academician I.P.Pavlov First Federal Saint-Petersburg State Medical University, Healthcare Ministry of Russia; tel.: (812) 338-78-20; ORCID: 0000-0001-6887-0166; e-mail: osmelena@mail.ru

Abstract

The purpose of the study was to evaluate the protective effect of the inhaled glucocorticosteroids of beclomethasone dipropionate (BDP) using the experimental model of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). **Materials and Methods.** The COPD model was reproduced in rats ($n = 30$) during a discrete 60-day exposure to nitrogen dioxide, 9 individuals formed an intact group. Inhalation of BDP (50 micrograms per day) and control ($n = 15$) placebo inhalation were performed for 60 days in the rats in the experimental group ($n = 15$). The cell composition and cytokine enzymatic profile of bronchoalveolar lavage fluid (BALF), its content of secretory immunoglobulin A (sIgA) and surfactant protein D (SP-D) were determined by ELISA. Histological and morphometric lungs examination was performed. **Results.** Typical for COPD pathomorphological changes in the lungs were determined in the placebo group, the content of inflammatory cells and pro-inflammatory mediators in BALF increased, the functional

activity of bronchoalveolar epithelium (SP-D, sIgA) deteriorated. There was a clear trend in the activity of neutrophilic-lymphocytic inflammation decrease with normalization of the profile of pro-inflammatory cytokines and enzymes in BALF. In the group of animals receiving BDP; there was also a restoration of the morphological structure of the bronchoalveolar epithelium and improvement of its functional activity. **Conclusion.** The using of BDP in rats with the experimental COPD model had an expressed anti-inflammatory effect associated with the activation of physiological repair processes in the lungs, manifested by the restoration of structural, immune barrier integrity and functional activity of the bronchoalveolar epithelium. **Key words:** chronic obstructive pulmonary disease, inhaled glucocorticosteroids, Beclomethasone dipropionate, inflammation.

For citation: Titova O.N., Kuzubova N.A., Lebedeva E.S. The protective effect of beclomethasone dipropionate in the modeling of chronic obstructive pulmonary disease. *Russian Pulmonology*. 2020; 30 (1): 61–68 (in Russian). DOI: 10.18093/0869-0189-2020-30-1-61-68

Важную роль в развитии и прогрессировании хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) играет возникающее под воздействием табачного дыма, токсических частиц или газов хроническое воспаление дыхательных путей, которое вызывает структурные изменения дыхательных путей и легочной паренхимы, а также нарастающее и необратимое ограничение воздушного потока [1]. Признаки персистирующего воспаления в дыхательных путях, в котором принимают участие нейтрофилы, эозинофилы, лимфоциты и другие клетки, обнаруживаются у больных ХОБЛ, в т. ч. после прекращения курения [2]. Ингаляционные глюкокортикостероиды (иГКС) благодаря своему противовоспалительному эффекту стали основой терапии бронхиальной астмы, а затем эти препараты начали использоваться также для лечения ХОБЛ – как в качестве монотерапии, так и в комбинации с бронходилататорами длительного действия [3]. В ряде исследований у пациентов с ХОБЛ изучалось потенциальное влияние иГКС на симптомы, качество жизни, риск обострений, скорость снижения объема форсированного выдоха за 1-ю секунду, а также смертность [3]. Согласно современным международным и российским руководствам, иГКС в комбинации с β_2 -агонистами длительного действия (или в составе тройной терапии вместе с антихолинэргическими препаратами длительного действия) являются одним из рекомендуемых вариантов терапии у пациентов с высоким риском обострений ХОБЛ [1, 4].

Повышенный риск развития пневмонии и системных нежелательных явлений, ассоциированных с иГКС, является предметом бурных споров клиницистов и ученых о роли иГКС в лечении ХОБЛ [5, 6]. В результате проведенного *post-hoc-анализа* исследования TORCH (*TOWARDS a Revolution in COPD Health*) обнаружено, что у получавших иГКС пациентов с ХОБЛ повышен риск развития внебольничной пневмонии (особенно у лиц пожилого возраста, с низким индексом массы тела, тяжелым ограничением воздушного потока и низким уровнем эозинофилов в крови), что, однако, не приводило к повышению смертности от пневмонии [7]. По заключению ряда экспертов, основанному на результатах рандомизированных клинических исследований и метаанализов, польза от применения иГКС у пациентов с ХОБЛ, включая облегчение симптомов, снижение риска обострений, повышение толерантности к физической нагрузке, улучшение состояния здоровья и качества жизни, продолжает перевешивать возможные риски нежелательных

явлений, по крайней мере при правильном определении показаний к назначению иГКС [5, 8].

Одна из возможных причин для повышения риска пневмонии у больных ХОБЛ – снижение под влиянием глюкокортикостероидов (ГКС) экспрессии врожденных антивирусных генов и усиление репликации вирусов [9]. Также у больных ХОБЛ в результате терапии иГКС может нарастать колонизация бронхиального секрета патогенными бактериями, однако этот эффект наблюдался только у пациентов с исходно низким ($\leq 2\%$) содержанием эозинофилов в мокроте или крови [10]. Высокое содержание эозинофилов в мокроте или крови рассматривается как потенциальный прогностический маркер ответа на терапию иГКС у больных ХОБЛ, при этом предлагаются различные пороговые уровни для выделения пациентов, которые получают пользу от назначения иГКС [11, 12].

Вместе с тем потенциал терапевтического эффекта иГКС при ХОБЛ нельзя оценивать исключительно по эозинофильным маркерам, поскольку воспаление при ХОБЛ является сложным и многофакторным процессом, в котором участвуют различные клетки и медиаторы [2]. Известно, что резистентность к иГКС клеток воспаления при ХОБЛ объясняется повреждением фермента гистондеацетилазы-2, которое возникает под действием оксидативного стресса, обусловленного воздействием свободных радикалов табачного дыма [13]. Однако хотя повреждение гистондеацетилазы-2 сохраняется у больных ХОБЛ и после прекращения курения [13], противовоспалительное действие иГКС по данным изучения клеточного состава бронхиального секрета и биопсии стенки бронха обнаруживалось как у продолжающих курить, так и у прекративших курение пациентов [14]. Важно отметить, что динамика содержания разных клеточных элементов (тучных клеток, нейтрофилов, $CD4^+$ и $CD8^+$ лимфоцитов) различалась в зависимости от статуса курения и длительности терапии – в первые 6 мес. или в отдаленном периоде (6–30 мес.), но не определялась только статусом курения [14]. Таким образом, противовоспалительное действие иГКС обнаруживается у больных ХОБЛ, в т. ч. продолжающих курить, и это действие опосредовано не только влиянием на эозинофильный компонент воспаления.

Еще один возможный механизм положительного влияния иГКС на течение ХОБЛ связан с сурфактантным протеином D (СП-D), который принимает участие в защите ткани легких от повреждения. У больных ХОБЛ наблюдалось снижение уровня

СП-D по сравнению с бывшими курильщиками без ХОБЛ, при этом терапия иГКС ассоциировалась с более высокими уровнями данного белка [15].

Целью исследования явилась оценка протективного эффекта иГКС беклометазона дипропионата (БДП) на модели формирования ХОБЛ в эксперименте с использованием гистологических и молекулярных методов.

Материалы и методы

Исследование выполнено на крысах-самцах линии Вистар массой тела 150–170 г (питомник лабораторных животных «Рапполово» РАН) в соответствии с директивой 2010 / 63 / EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях*.

Модель формирования ХОБЛ (от острой реакции на повреждение до хронического процесса) воспроизводилась с помощью ингаляционного воздействия диоксида азота (NO_2) в концентрации 30–40 мг / м³, получаемого *ex temporae* лабораторным путем [16]. Ингаляции NO_2 проводились в прерывистом режиме (3 экспозиции в день по 30 мин с 30-минутным интервалом) в течение 60 дней.

В течение этого срока животные опытной группы ($n = 15$) 1 раз в 2 дня получали ингаляции БДП в эрозольной форме (Кленил, *Chiesi Farmaceutici S.p.A.*, Италия). Препарат ингалировался через специальную маску, которая надевалась на морду крысы; в отверстие маски вставлялась распылительная насадка аэрозольного ингалятора. Для распыления 1 дозы препарата (50 мкг БДП) совершалось 1 нажатие на баллончик, выдержка составляла 10 с, в течение которых крыса совершала 20–25 дыхательных движений. Животным группы плацебо ($n = 15$) проводилась аналогичная процедура с использованием ингалятора с плацебо. Интактную группу составили 9 особей. Эвтаназия осуществлялась методом ингаляции диоксида углерода.

Для получения пробы бронхоальвеолярной лаважной жидкости (БАЛЖ) в легкие через трахеальный катетер с помощью шприца вводился физиологический раствор (4–5 мл), подогретый до температуры 35–37 °С, процедура повторялась 3–4 раза. БАЛЖ собиралась в силиконированные пробирки, центрифугировалась в течение 10 мин при 1 000 об. / мин. Для определения цитограммы БАЛЖ в мазках, окрашенных по Романовскому–Гимзе, проводился подсчет различных клеточных элементов на 200 клеток с расчетом процентного содержания.

Для гистологических исследований легкие направлялись введением через трахею 10%-го раствора формальдегида. Материал заключался в парафин, срезы толщиной 5–7 мкм окрашивались гематоксилином–эозином и по Ван Гизону. Морфометрический анализ гистологических препаратов легочной

ткани осуществлялся с помощью аппаратно-программного комплекса «ВидеоТест-Морфология 5.2». На основании контрастности цветов вычислялась площадь просвета альвеол, клеточного инфильтрата, толщина межальвеолярных перегородок и мышечной оболочки стенки бронха. В каждом случае проводилось 10-кратное измерение с последующим вычислением средних значений.

В пробах БАЛЖ определялось содержание цитокинов и ферментов – фактора некроза опухоли- α (TNF- α), интерлейкина (IL)-8, нейтрофильной эластазы, матриксной металлопротеиназы-12, секреторного иммуноглобулина А и СП-D, использовался метод иммуноферментного анализа ELISA с видоспецифичными тест-системами (*Cusabio Biotech, Kumai*).

Статистическая обработка осуществлялась с помощью пакета прикладных программ *Statistica 6.0* для *Windows*. Определялись средние арифметические величины (M) и стандартная ошибка средней величины (m). Оценивался характер распределения значений переменных, при нормальном распределении расчет достоверности различий между группами производился по t -критерию Стьюдента. Различия сравниваемых показателей считались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

По окончании 60-дневного ингаляционного воздействия NO_2 у животных группы плацебо в БАЛЖ доля нейтрофилов повысилась до $29,8 \pm 2,7$ % (в интактной группе – $4,8 \pm 0,4$ %; $p < 0,05$), лимфоцитов – до $21,3 \pm 2,7$ % (в интактной группе – $7,9 \pm 1,9$ %; $p < 0,05$) при снижении доли альвеолярных макрофагов до $48,9 \pm 4,4$ % (в интактной группе – $87,3 \pm 8,2$ %; $p < 0,05$). Цитограмма БАЛЖ у крыс, подвергавшихся воздействию NO_2 и получавших ингаляции БДП, мало отличалась от таковой в интактной группе: содержание нейтрофилов составляло $6,3 \pm 1,2$ %, лимфоцитов – $8,9 \pm 1,8$ %, макрофагов – $84,8 \pm 2,3$ %; различия с группой плацебо были достоверны по всем параметрам ($p < 0,05$).

Содержание провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-8), нейтрофильной эластазы и матриксной металлопротеиназы-12 в БАЛЖ у животных группы плацебо в конце исследования превышало интактные значения в 1,5–2 раза, тогда как в группе крыс, получавших ингаляции БДП, их концентрации достоверно не отличались от таковых в интактной группе (табл. 1).

К концу экспозиционного периода в группе плацебо определялись характерные для ХОБЛ патоморфологические изменения в эпителии бронхов и легочной ткани – дедифференцировка и атрофия трахеобронхиального эпителия с утратой ресничек, сливание эпителиоцитов и обнажение базальной

* Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. Available at: <https://eur-lex.europa.eu/eli/dir/2010/63/oj> [Accessed: September 6, 2019].

Таблица 1
Цитокинферментный профиль
бронхоальвеолярной лаважной жидкости у крыс
Table 1
Cytokine enzymatic fluid profile of bronchoalveolar lavage in rats

Содержание цитокинов и ферментов	Интактная группа n = 9	Модель ХОБЛ (плацебо) n = 15	Модель ХОБЛ (БДП) n = 15
TNF- α , пг / мл	17,06 \pm 1,26	32,56 \pm 3,08*	16,13 \pm 1,07**
IL-8, пг / мл	26,76 \pm 1,43	39,55 \pm 2,78*	29,72 \pm 1,41**
Нейтрофильная эластаза, нг / мл	19,58 \pm 2,27	31,03 \pm 2,12*	22,64 \pm 1,21**
Матриксная металлопротеиназа-12, нг / мл	0,92 \pm 0,08	1,68 \pm 0,08*	0,82 \pm 0,07**

Примечание: ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких; TNF- α – фактор некроза опухоли- α ; IL – интерлейкин; БДП – беклометазона дипропионат; различия достоверны: * – с интактной группой ($p < 0,05$); ** – группой плацебо ($p < 0,05$).
Note: differences are reliable: * , with intact group ($p < 0,05$); ** , with placebo group ($p < 0,05$).

мембраны, очаговая гиперплазия бокаловидных клеток, участки плоскоклеточной метаплазии бронхиального эпителия, дистрофия эпителия бронхиальных желез с нарушением секретообразования. Отмечались отек и лейкоцитарная инфильтрация соединительной ткани вокруг сосудов и бронхов, умеренно выраженный перибронхиальный и периваскулярный склероз, очаги фиброза. В респираторных бронхиолах и альвеолярных ходах встречались участки расширения, а в подплевральных отделах – участки панацинарной эмфиземы. При морфометрическом анализе выявлено утолщение межальвеолярных перегородок и мышечной оболочки бронхиальной стенки, увеличение почти в 2 раза доли площади, занимаемой клеточным инфильтратом, а также тенденция к увеличению площади просвета альвеол (табл. 2).

Вследствие повреждения бронхиального эпителия у крыс группы плацебо снижались показатели его функциональной активности – содержание в БАЛЖ секреторного иммуноглобулина А составило $13,5 \pm 1,3$ мкг / мг белка (в интактной группе – $25,2 \pm 1,6$ мкг / мг белка; $p < 0,05$), гидрофильного СП-D – $41,2 \pm 4,1$ пг / мл (в интактной группе – $69,4 \pm 3,8$ пг / мл; $p < 0,05$).

В бронхиальном эпителии крыс, получавших БДП, не выявлялись участки слущенных эпителиоцитов и оголенной базальной мембраны, зоны дистрофии, атрофии и плоскоклеточной метаплазии эпителия. Соотношение реснитчатых и бокаловидных клеток практически соответствовало норме. Вокруг крупных бронхов отмечалась слабая лимфоцитарная инфильтрация без лимфоидных фолликулов. Отсутствовали признаки ремоделирования стенок дыхательных путей и эмфиземы. Морфометрические показатели легочной ткани достоверно не отличались от интактных значений (см. табл. 2).

В группе БДП наблюдалось более высокое содержание в БАЛЖ секреторного иммуноглобулина А ($34,5 \pm 3,2$ мкг / мг белка; $p < 0,05$ по сравнению с группой плацебо) и СП-D ($76,7 \pm 5,1$ пг / мл;

Таблица 2
Показатели морфометрии легких крыс
Table 2
Rat lung morphometry values

Показатель	Интактная группа n = 9	Модель ХОБЛ (плацебо) n = 15	Модель ХОБЛ (БДП) n = 15
Толщина межальвеолярных перегородок, мкм	3,5 \pm 0,2	4,8 \pm 0,1*	3,2 \pm 0,1**
Площадь просвета альвеол, мкм ²	408,2 \pm 47,0	437,9 \pm 30,9	420,4 \pm 37,1
Толщина мышечной оболочки стенки бронха, мкм	8,9 \pm 0,3	13,4 \pm 0,3*	10,6 \pm 0,3**
Доля площади инфильтрата, %	11,6 \pm 1,1	20,3 \pm 0,6*	14,1 \pm 0,6**

Примечание: ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких; БДП – беклометазона дипропионат; различия достоверны: * – с интактной группой ($p < 0,05$); ** – группой плацебо ($p < 0,05$).
Note: differences are reliable: * , with intact group ($p < 0,05$); ** , with placebo group ($p < 0,05$).

$p < 0,05$ по сравнению с группой плацебо), что может отражать сохранение морфофункциональной целостности бронхоальвеолярного эпителия и секреторной деятельности плазматических клеток базальной мембраны и альвеолоцитов 2-го типа.

При моделировании ХОБЛ у крыс путем длительного ингаляционного воздействия пневмотоксиканта диоксида азота в группе плацебо наблюдалось повреждение респираторного эпителия, которое сопровождалось привлечением в дыхательные пути клеток воспаления (нейтрофилов и лимфоцитов), продукцией провоспалительных медиаторов, деструктивными и дисфункциональными нарушениями бронхиального эпителия и ремоделированием легочной ткани.

У крыс опытной группы ингаляционное применение БДП, которое проводилось в течение всего периода воспроизведения модели ХОБЛ, позволило предотвратить выраженную активацию нейтрофильно-лимфоцитарного воспаления, при этом состав клеток и содержание провоспалительных цитокинов и ферментов в бронхоальвеолярном пространстве достоверно не отличались от таковых в интактной группе. Подавление активности воспаления под влиянием иГКС способствовало тому, что при длительном воздействии ингаляционного оксиданта диоксида азота развития характерных для ХОБЛ признаков ремоделирования легких (гиперплазии бокаловидных клеток, плоскоклеточной метаплазии, эмфиземы) не наблюдалось. В отсутствие повреждения респираторной зоны сохранялась функциональная активность бронхиального эпителия, о чем свидетельствовали нормальные концентрации в БАЛЖ маркеров местной иммунной защиты – секреторного иммуноглобулина А и СП-D.

Обнаруженный протективный и противовоспалительный эффект БДП может быть опосредован нейрогенным (негеномным) механизмом. Ингалируемые поллютанты взаимодействуют с эпителиальными капсаицин-чувствительными окончаниями С-волокон, реагирующими на химические

раздражители. Аfferентные терминалы С-волокон автономной нервной системы легких являются рецепторной структурой, с которой взаимодействуют диоксид азота, и ГКС [17, 18]. В опытах на NO₂-индуцированной модели ХОБЛ показано, что при длительной (≥ 60 дней) экспозиции NO₂ вследствие повреждения бронхиального эпителия происходит инактивация локализованных в нем аfferентных окончаний С-волокон, ведущая на поздних сроках формирования модели ХОБЛ к развитию негенетического механизма рефрактерности к ГКС [18]. Поэтому наиболее выраженный эффект преднизолона проявлялся именно на начальных стадиях воспалительного процесса и формирования модели ХОБЛ [18]. Месячный курс БДП, проведенный по окончании 60-дневной экспозиции NO₂ (в условиях сформированной модели ХОБЛ), не сопровождался терапевтическим эффектом, что можно было расценивать как развитие рефрактерности к ГКС [19].

Еще одним возможным механизмом, с помощью которого можно объяснить протективный эффект раннего применения иГКС, может быть предотвращение цитотоксических эффектов эозинофильных экстраклеточных ловушек, образующихся в результате этоза эозинофилов, — особой формы программируемой гибели клеток с образованием внеклеточной ДНК-содержащей сети с адсорбированными белками [20]. Этоз эозинофилов может запускаться провоспалительными цитокинами (TNF- α , интерлейкин-8), активными формами кислорода и множеством других агентов. Эозинофильные гистоны ядерной и митохондриальной ДНК и белки эозинофильных гранул повреждают клетки эпителия и эндотелия, способствуя прогрессированию воспаления [21]. В результате изучения этоза эозинофилов у пациентов, относящихся к различным группам ХОБЛ согласно критериям Глобальной инициативы по диагностике, лечению и профилактике ХОБЛ (*Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease — GOLD*) [1], выяснилось, что признаки этоза отсутствуют у пациентов группы А, но обнаруживаются у пациентов групп В, С и D [22]. Клеточный дебрис эозинофильных ловушек может служить хемотаксическим стимулом для привлечения нейтрофилов и нетоза — образования нейтрофильных экстраклеточных ловушек, которые в большом количестве обнаруживаются у пациентов с частыми обострениями (группы С и D по GOLD) [22]. Высказывается предположение, что этоз эозинофилов может играть важную роль в формировании ХОБЛ и прогрессировании воспаления, а появление эозинофилов в пробах индуцированной мокроты у здоровых курильщиков может служить предиктором развития ХОБЛ и показанием для назначения противовоспалительной терапии [22].

Ограничением данного исследования служит его экспериментальный характер, а также тот факт, что терапевтическое воздействие БДП начиналось одновременно с повреждающим воздействием, которое должно было сформировать модель ХОБЛ. Таким образом, оценивалась эффективность терапевтиче-

ского вмешательства в острую фазу повреждения и воспаления, тогда как в клинической практике лечение ХОБЛ обычно начинается на стадии развернутых симптомов, после многолетнего воздействия повреждающих факторов. На этой стадии болезни интенсивность и механизмы воспаления могут существенно отличаться от изученной модели, в т. ч. в отношении генерации экстраклеточных ловушек [22].

Согласно современным международным и российским руководствам, иГКС в составе двойной или тройной терапии (с β_2 -агонистами длительного действия и антихолинергическими препаратами длительного действия) рекомендуются на поздних стадиях ХОБЛ у пациентов с высоким риском обострений [1, 4]. Тем не менее влияние иГКС на течение ХОБЛ продолжает изучаться, в т. ч. при раннем назначении [14], ведется поиск предикторов успеха этой терапии и адьювантов, при применении которых могла бы повыситься чувствительность больных ХОБЛ к терапии иГКС.

Продолжается поиск фенотипических маркеров, помимо уровня эозинофилов в крови и мокроте, которые позволят прогнозировать эффективность иГКС у больных ХОБЛ. Так, по данным исследования [23] показано, что предикторами успеха терапии иГКС могут быть меньшие стаж курения и выраженность воспаления и эмфиземы. При изучении возможных генетических факторов обнаружены однонуклеотидные полиморфизмы генов, участвующих в передаче сигнала от ГКС, которые связаны с лучшими результатами терапии иГКС [24].

Среди факторов, которые могут изменять чувствительность больных ХОБЛ к терапии иГКС, одним из важнейших является курение. Хотя в случае продолжающегося курения снижается чувствительность больных ХОБЛ к иГКС, влияние иГКС на маркеры воспаления обнаруживается и у этих пациентов [14]. Усиливает рефрактерность гистондеацетилазы-2 к действию ГКС также колонизация бронхиального дерева *Haemophilus influenzae*, часто наблюдаемая при ХОБЛ [25].

Рефрактерность гистондеацетилазы-2 к действию ГКС может быть преодолена при использовании низких доз теофиллина, способного активировать гистондеацетилазу-2 с помощью прямого эффекта, не связанного с действием на фосфодиэстеразу [25, 26]. Помимо теофиллина, способность восстанавливать чувствительность гистондеацетилазы-2 к действию ГКС, сниженную вследствие оксидативного стресса, обнаружена у солитромицина — новой молекулы класса макролидов [27].

Надежды связаны также с использованием при ХОБЛ экстрамелкодисперсных препаратов иГКС, которые создают аэрозоль со средним аэродинамическим диаметром частиц ≤ 2 мкм [28, 29]. При использовании иГКС в форме экстрамелкодисперсных аэрозолей обеспечивается более высокая депозиция препарата в малых дыхательных путях, являющихся основным субстратом поражения при ХОБЛ, при этом требуется меньшая доза иГКС [28].

При использовании экстрамелкодисперсного аэрозольного ингалятора БДП / формотерол увеличивается легочная депозиция и уменьшается внелегочная депозиция препарата по сравнению с обычным ингалятором, что способствует оптимальному соотношению эффективности и безопасности иГКС у пациентов с ХОБЛ; кроме того, при применении указанной формы препарата эффективно уменьшается легочная гиперинфляция [30].

В ретроспективном исследовании, в котором сравнивалась эффективность экстрамелкодисперсного БДП и неэкстрамелкодисперсного флутиказона пропионата у больных ХОБЛ при инициации терапии или увеличении ее объема, оказалось, что вероятность поддержания стабильного состояния пациента (без обострений и изменений терапии) в течение 2 лет была достоверно выше при использовании экстрамелкодисперсного БДП (отношение шансов – 2,50; 95%-ный доверительный интервал – 1,32–4,73) [31]. При этом медиана дозы иГКС в группе экстрамелкодисперсного БДП была достоверно меньше, чем при использовании флутиказона пропионата – в случае впервые начатой терапии иГКС дозы составили 315 и 436 мкг в сутки, а в подгруппе, в которой на старте объем терапии увеличивался, – 438 и 534 мкг в сутки соответственно ($p < 0,001$) [31].

Использование экстрамелкодисперсных иГКС позволяет также избежать повышения риска пневмонии у больных ХОБЛ. По данным исследования о применении тройной комбинации БДП / формотерол / гликопирроний в форме экстрамелкодисперсного дозированного аэрозоля показано, что риск пневмонии у больных ХОБЛ в группе тройной терапии не отличался от такового в группе двойной бронходилатационной терапии индакатерол / гликопирроний [32].

Заключение

Основу развития и прогрессирования ХОБЛ составляет персистенция хронического воспалительного процесса, поэтому поиск эффективных противовоспалительных вмешательств и изучение условий, при которых имеющиеся противовоспалительные препараты, такие как иГКС, будут максимально эффективными, остается крайне актуальным. По результатам настоящей работы продемонстрировано протективное действие БДП в отношении формирования модели ХОБЛ, которое заключалось в сохранении структуры, иммунобарьерной целостности и функциональной активности легочной ткани. Можно предположить, что при назначении иГКС на ранних этапах формирования ХОБЛ (до стадии инактивации терминалей С-волокон под воздействием поллютантов и / или до массивной генерации экстраклеточных ловушек – эозинофильных и затем нейтрофильных) может наблюдаться протективный эффект в отношении прогрессирования хронического воспалительного процесса при ХОБЛ, однако для подтверждения данной гипотезы требуются дальнейшие исследования.

Благодарности

Публикация осуществлена при финансовой поддержке компании «Къези Фармасьютикалс». Мнение автора может не совпадать с позицией компании. Компания «Къези Фармасьютикалс» не несет ответственности за возможные нарушения авторских прав и иных прав третьих лиц в результате публикации и распространения данной информации.

Acknowledgements

This publication is supported by Chiesi Pharmaceuticals. The author's opinion could differ from the position of the company. Chiesi Pharmaceuticals is not responsible for any possible piracy and other violations of stakeholders' rights and right of other third parties resulted from this publication and the information spread.

Литература

1. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. Global Strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. 2019 Report. Available at: <https://goldcopd.org/wp-content/uploads/2018/11/GOLD-2019-v1.7-FINAL-14Nov2018-WMS.pdf> [Accessed: September 6, 2019].
2. Rutgers S.R., Postma D.S., ten Hacken N.H. et al. Ongoing airway inflammation in patients with COPD who do not currently smoke. *Thorax*. 2000; 55 (1): 12–18. DOI: 10.1136/thorax.55.1.12.
3. Barnes P.J. Inhaled corticosteroids in COPD: a controversy. *Respiration*. 2010; 80 (2): 89–95. DOI: 10.1159/000315416.
4. Aisanov Z., Avdeev S., Arkhipov V. et al. Russian guidelines for the management of COPD: algorithm of pharmacologic treatment. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis*. 2018; 13: 183–187. DOI: 10.2147/COPD.S153770.
5. Agusti A., Fabbri L.M., Singh D. et al. Inhaled corticosteroids in COPD: friend or foe? *Eur. Respir. J.* 2018; 52 (6). pii: 1801219. DOI: 10.1183/13993003.01219-2018.
6. Cataldo D., Derom E., Liistro G. et al. Overuse of inhaled corticosteroids in COPD: five questions for withdrawal in daily practice. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis*. 2018; 13: 2089–2099. DOI: 10.2147/COPD.S164259.
7. Crim C., Calverley P.M.A., Anderson J.A. et al. Pneumonia risk in COPD patients receiving inhaled corticosteroids alone or in combination: TORCH study results. *Eur. Respir. J.* 2009; 34 (3): 641–647. DOI: 10.1183/09031936.00193908.
8. Vanfleteren L., Fabbri L.M., Papi A. et al. Triple therapy (ICS/LABA/LAMA) in COPD: time for a reappraisal. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis*. 2018; 13: 3971–3981. DOI: 10.2147/COPD.S185975.
9. Thomas B.J., Porritt R.A., Hertzog P.J. et al. Glucocorticosteroids enhance replication of respiratory viruses: effect of adjuvant interferon. *Sci. Rep.* 2014; 4: 7176. DOI: 10.1038/srep07176.
10. Contoli M., Pauletti A., Rossi M.R. et al. Long-term effects of inhaled corticosteroids on sputum bacterial and viral loads in COPD. *Eur. Respir. J.* 2017; 50 (4): 1700451. DOI: 10.1183/13993003.00451-2017.
11. Pavord I.D., Lettis S., Locantore N. et al. Blood eosinophils and inhaled corticosteroid/long-acting β -2 agonist efficacy in COPD. *Thorax*. 2016; 71 (2): 118–125. DOI: 10.1136/thoraxjnl-2015-207021.
12. Bafadhel M., Pavord I.D., Russell R.E.K. Eosinophils in COPD: just another biomarker? *Lancet Respir. Med.* 2017; 5 (9): 747–759. DOI: 10.1016/S2213-2600(17)30217-5.
13. Barnes P.J. Role of HDAC2 in the pathophysiology of COPD. *Annu. Rev. Physiol.* 2009; 71: 451–464. DOI: 10.1146/annurev.physiol.010908.163257.
14. Hoonhorst S.J.M., ten Hacken N.H.T., Vonk J.M. et al. Steroid resistance in COPD? Overlap and differential anti-

- inflammatory effects in smokers and ex-smokers. *PLoS One*. 2014; 9 (2): e87443. DOI: 10.1371/journal.pone.0087443.
15. Sims M.W., Tal-Singer R.M., Kierstein S. et al. Chronic obstructive pulmonary disease and inhaled steroids alter surfactant protein D (SP-D) levels: a cross-sectional study. *Respir. Res.* 2008; 9: 13. DOI: 10.1186/1465-9921-9-13.
 16. Lebedeva E.S., Kuzubova N.A., Danilov L.N. et al. Experimental modelling of chronic obstructive pulmonary disease. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2012; 152 (5): 659–663. DOI: 10.1007/s10517-012-1601-3.
 17. Федин А.Н., Кузубова Н.А., Данилов Л.Н., Лебедева Е.С. Нарушение функции нервных структур дыхательных путей у ингалированных диоксидом азота крыс. *Российский физиологический журнал им. И.М.Сеченова*. 2007; 93 (9): 1071–1077.
 18. Федин А.Н., Кузубова Н.А., Данилов Л.Н. и др. Бронхолитический эффект преднизолона у крыс, ингалированных диоксидом азота. *Российский физиологический журнал им. И.М.Сеченова*. 2010; 96 (3): 293–300.
 19. Кузубова Н.А., Федин А.Н., Лебедева Е.С., Платонова И.С. Влияние различных вариантов терапии на сокращение бронхов крыс с моделированной обструктивной болезнью легких. *Российский физиологический журнал им. И.М.Сеченова*. 2014; 100 (9): 1049–1058.
 20. Ueki S., Melo R.C.N., Ghiran I. et al. Eosinophil extracellular DNA trap cell death mediates lytic release of free secretion-competent eosinophil granules in humans. *Blood*. 2013; 121 (11): 2074–2083. DOI: 10.1182/blood-2012-05-432088.
 21. Ueki S., Tokunaga T., Fujieda S. et al. Eosinophil Ectosis and DNA traps: a new look at eosinophilic inflammation. *Curr. Allergy Asthma Rep.* 2016; 16 (8): 54. DOI: 10.1007/s11882-016-0634-5.
 22. Uribe Echevarría L., Leimgruber C., Garcia González J. et al. Evidence of eosinophil extracellular trap cell death in COPD: does it represent the trigger that switches on the disease? *Int. J. COPD*. 2017; 12: 885–896. DOI: 10.2147/COPD.S115969.
 23. Snoeck-Stroband J.B., Lapperre T.S., Sterk P.J. et al. Prediction of long-term benefits of inhaled steroids by phenotypic markers in moderate-to-severe COPD: a randomized controlled trial. *PLoS One*. 2015; 10 (12): e0143793. DOI: 10.1371/journal.pone.0143793.
 24. Russo P., Tomino C., Santoro A. et al. FKBP5 rs4713916: a potential genetic predictor of interindividual different response to inhaled corticosteroids in patients with chronic obstructive pulmonary disease in a real-life setting. *Int. J. Mol. Sci.* 2019; 20 (8): pii: E2024. DOI: 10.3390/ijms20082024.
 25. Cosío B.G., Jahn A., Iglesias A. et al. Haemophilus influenzae induces steroid-resistant inflammatory responses in COPD. *BMC Pulm. Med.* 2015; 15: 157. DOI: 10.1186/s12890-015-0155-3.
 26. Ito K., Lim S., Caramori G. et al. A molecular mechanism of action of theophylline: Induction of histone deacetylase activity to decrease inflammatory gene expression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2002; 99 (13): 8921–8926. DOI: 10.1073/pnas.132556899.
 27. Kobayashi Y., Wada H., Rossios C. et al. A novel macrolide/fluoroketolide, solithromycin (CEM-101), reverses corticosteroid insensitivity via phosphoinositide 3-kinase pathway inhibition. *Br. J. Pharmacol.* 2013; 169 (5): 1024–1034. DOI: 10.1111/bph.12187.
 28. Pirina P., Foschino Barbaro M.P., Paleari D., Spanevello A. Small airway inflammation and extrafine inhaled corticosteroids plus long-acting beta2-agonists formulations in chronic obstructive pulmonary disease. *Respir. Med.* 2018; 143: 74–81. DOI: 10.1016/j.rmed.2018.08.013.
 29. Лещенко И.В., Куделя Л.М., Игнатова Г.Л. и др. Резолюция совета экспертов «Место противовоспалительной терапии при ХОБЛ в реальной клинической практике» от 8 апреля 2017 г., Новосибирск. *Русский медицинский журнал*. 2017; 25 (18): 1322–1324.
 30. De Backer J., Vos W., Vinchurkar S. et al. The effects of extrafine beclometasone/formoterol (BDP/F) on lung function, dyspnea, hyperinflation, and airway geometry in COPD patients: novel insight using functional respiratory imaging. *J. Aerosol. Med. Pulm. Drug Deliv.* 2015; 28 (2): 88–99. DOI: 10.1089/jamp.2013.1064.
 31. Postma D.S., Roche N., Colice G. et al. Comparing the effectiveness of small-particle versus large-particle inhaled corticosteroid in COPD. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2014; 9 (1): 1163–1186. DOI: 10.2147/COPD.S68289.
 32. Papi A., Vestbo J., Fabbri L. et al. Extrafine inhaled triple therapy versus dual bronchodilator therapy in chronic obstructive pulmonary disease (TRIBUTE): a double-blind, parallel group, randomised controlled trial. *Lancet*. 2018; 391 (10125): 1076–1084. DOI: 10.1016/S0140-6736(18)30206-X.

Поступила 21.01.20

References

1. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. Global Strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. 2019 Report. Available at: <https://goldcopd.org/wp-content/uploads/2018/11/GOLD-2019-v1.7-FINAL-14Nov2018-WMS.pdf> [Accessed: September 6, 2019].
2. Rutgers S.R., Postma D.S., ten Hacken N.H. et al. Ongoing airway inflammation in patients with COPD who do not currently smoke. *Thorax*. 2000; 55 (1): 12–18. DOI: 10.1136/thorax.55.1.12.
3. Barnes P.J. Inhaled corticosteroids in COPD: a controversy. *Respiration*. 2010; 80 (2): 89–95. DOI: 10.1159/000315416.
4. Aisanov Z., Avdeev S., Arkhipov V. et al. Russian guidelines for the management of COPD: algorithm of pharmacologic treatment. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2018; 13: 183–187. DOI: 10.2147/COPD.S153770.
5. Agusti A., Fabbri L.M., Singh D. et al. Inhaled corticosteroids in COPD: friend or foe? *Eur. Respir. J.* 2018; 52 (6): pii: 1801219. DOI: 10.1183/13993003.01219-2018.
6. Cataldo D., Derom E., Liistro G. et al. Overuse of inhaled corticosteroids in COPD: five questions for withdrawal in daily practice. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2018; 13: 2089–2099. DOI: 10.2147/COPD.S164259.
7. Crim C., Calverley P.M.A., Anderson J.A. et al. Pneumonia risk in COPD patients receiving inhaled corticosteroids alone or in combination: TORCH study results. *Eur. Respir. J.* 2009; 34 (3): 641–647. DOI: 10.1183/09031936.00193908.
8. Vanfleteren L., Fabbri L.M., Papi A. et al. Triple therapy (ICS/LABA/LAMA) in COPD: time for a reappraisal. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2018; 13: 3971–3981. DOI: 10.2147/COPD.S185975.
9. Thomas B.J., Porritt R.A., Hertzog P.J. et al. Glucocorticosteroids enhance replication of respiratory viruses: effect of adjuvant interferon. *Sci. Rep.* 2014; 4: 7176. DOI: 10.1038/srep07176.
10. Contoli M., Pauletti A., Rossi M.R. et al. Long-term effects of inhaled corticosteroids on sputum bacterial and viral loads in COPD. *Eur. Respir. J.* 2017; 50 (4): 1700451. DOI: 10.1183/13993003.00451-2017.

11. Pavord I.D., Lettis S., Locantore N. et al. Blood eosinophils and inhaled corticosteroid/long-acting β -2 agonist efficacy in COPD. *Thorax*. 2016; 71 (2): 118–125. DOI: 10.1136/thoraxjnl-2015-207021.
12. Bafadhel M., Pavord I.D., Russell R.E.K. Eosinophils in COPD: just another biomarker? *Lancet Respir. Med.* 2017; 5 (9): 747–759. DOI: 10.1016/S2213-2600(17)30217-5.
13. Barnes P.J. Role of HDAC2 in the pathophysiology of COPD. *Annu. Rev. Physiol.* 2009; 71: 451–464. DOI: 10.1146/annurev.physiol.010908.163257.
14. Hoonhorst S.J.M., ten Hacken N.H.T., Vonk J.M. et al. Steroid resistance in COPD? Overlap and differential anti-inflammatory effects in smokers and ex-smokers. *PLoS One*. 2014; 9 (2): e87443. DOI: 10.1371/journal.pone.0087443.
15. Sims M.W., Tal-Singer R.M., Kierstein S. et al. Chronic obstructive pulmonary disease and inhaled steroids alter surfactant protein D (SP-D) levels: a cross-sectional study. *Respir. Res.* 2008; 9: 13. DOI: 10.1186/1465-9921-9-13.
16. Lebedeva E.S., Kuzubova N.A., Danilov L.N. et al. Experimental modelling of chronic obstructive pulmonary disease. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2012; 152 (5): 659–663. DOI: 10.1007/s10517-012-1601-3.
17. Fedin A.N., Kuzubova N.A., Danilov L.N., Lebedeva E.S. [Dysfunction of airway nervous structures in rats inhaled with nitrogen dioxide]. *Rossiyskiy fiziologicheskii zhurnal im. I.M.Sechenova*. 2007; 93 (9): 1071–1077 (in Russian).
18. Fedin A.N., Kuzubova N.A., Danilov L.N. et al. [Broncholytic effect of prednisolone in the rats inhaled with nitrogen dioxide]. *Rossiyskiy fiziologicheskii zhurnal im. I.M.Sechenova*. 2010; 96 (3): 293–300 (in Russian).
19. Kuzubova N.A., Fedin A.N., Lebedeva E.S., Platonova I.S. [Effect of different therapy options on bronchial contraction in rats with modeled obstructive pulmonary disease]. *Rossiyskiy fiziologicheskii zhurnal im. I.M.Sechenova*. 2014; 100 (9): 1049–1058 (in Russian).
20. Ueki S., Melo R.C.N., Ghiran I. et al. Eosinophil extracellular DNA trap cell death mediates lytic release of free secretion-competent eosinophil granules in humans. *Blood*. 2013; 121 (11): 2074–2083. DOI: 10.1182/blood-2012-05-432088.
21. Ueki S., Tokunaga T., Fujieda S. et al. Eosinophil Ectosis and DNA traps: a new look at eosinophilic inflammation. *Curr. Allergy Asthma Rep.* 2016; 16 (8): 54. DOI: 10.1007/s11882-016-0634-5.
22. Uribe Echevarría L., Leimgruber C., Garcia González J. et al. Evidence of eosinophil extracellular trap cell death in COPD: does it represent the trigger that switches on the disease? *Int. J. COPD*. 2017; 12: 885–896. DOI: 10.2147/COPD.S115969.
23. Snoeck-Stroband J.B., Lapperre T.S., Sterk P.J. et al. Prediction of long-term benefits of inhaled steroids by phenotypic markers in moderate-to-severe COPD: a randomized controlled trial. *PLoS One*. 2015; 10 (12): e0143793. DOI: 10.1371/journal.pone.0143793.
24. Russo P., Tomino C., Santoro A. et al. FKBP5 rs4713916: a potential genetic predictor of interindividual different response to inhaled corticosteroids in patients with chronic obstructive pulmonary disease in a real-life setting. *Int. J. Mol. Sci.* 2019; 20 (8): pii: E2024. DOI: 10.3390/ijms20082024.
25. Cosío B.G., Jahn A., Iglesias A. et al. Haemophilus influenzae induces steroid-resistant inflammatory responses in COPD. *BMC Pulm. Med.* 2015; 15: 157. DOI: 10.1186/s12890-015-0155-3.
26. Ito K., Lim S., Caramori G. et al. A molecular mechanism of action of theophylline: Induction of histone deacetylase activity to decrease inflammatory gene expression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2002; 99 (13): 8921–8926. DOI: 10.1073/pnas.132556899.
27. Kobayashi Y., Wada H., Rossios C. et al. A novel macrolide/fluoroketolide, solithromycin (CEM-101), reverses corticosteroid insensitivity via phosphoinositide 3-kinase pathway inhibition. *Br. J. Pharmacol.* 2013; 169 (5): 1024–1034. DOI: 10.1111/bph.12187.
28. Pirina P., Foschino Barbaro M.P., Paleari D., Spanevello A. Small airway inflammation and extrafine inhaled corticosteroids plus long-acting beta2-agonists formulations in chronic obstructive pulmonary disease. *Respir. Med.* 2018; 143: 74–81. DOI: 10.1016/j.rmed.2018.08.013.
29. Leshchenko I.V., Kudelya L.M., Ignatova G.L. et al. [Resolution of the Board of Experts «Place of anti-inflammatory therapy in COPD in real clinical practice» dated April 8th, 2017, Novosibirsk]. *Russkiy meditsinskiy zhurnal*. 2017; 25 (18): 1322–1324 (in Russian).
30. De Backer J., Vos W., Vinchurkar S. et al. The effects of extrafine beclometasone/formoterol (BDP/F) on lung function, dyspnea, hyperinflation, and airway geometry in COPD patients: novel insight using functional respiratory imaging. *J. Aerosol. Med. Pulm. Drug Deliv.* 2015; 28 (2): 88–99. DOI: 10.1089/jamp.2013.1064.
31. Postma D.S., Roche N., Colice G. et al. Comparing the effectiveness of small-particle versus large-particle inhaled corticosteroid in COPD. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2014; 9 (1): 1163–1186. DOI: 10.2147/COPD.S68289.
32. Papi A., Vestbo J., Fabbri L. et al. Extrafine inhaled triple therapy versus dual bronchodilator therapy in chronic obstructive pulmonary disease (TRIBUTE): a double-blind, parallel group, randomised controlled trial. *Lancet*. 2018; 391 (10125): 1076–1084. DOI: 10.1016/S0140-6736(18)30206-X.

Received: January 21, 2020