

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
«Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза»

*На правах рукописи*

Адамовская Евгения Николаевна

**Интерстициальные болезни легких с фиброзным фенотипом: клиническо-  
лабораторные характеристики**

3.1.29. Пульмонология

Диссертация  
на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

**Научный руководитель:**  
доктор медицинских наук, профессор  
Шмелев Евгений Иванович

Москва – 2024

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

ВВЕДЕНИЕ .....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	11
1.1 Эпидемиология, факторы риска ИЗЛ с фиброзным фенотипом .....	13
1.2 Патогенез ИЗЛ с фибротическим фенотипом .....	18
1.2.1 Особенности патогенеза фибротического варианта гиперчувствительного пневмонита.....	18
1.2.2 Особенности патогенеза фибротического саркоидоза .....	22
1.3 Основные вопросы диагностики ИЗЛ с фиброзным фенотипом .....	26
1.4 Вопросы поиска маркеров-предикторов развития и прогрессирования фиброзных изменений .....	32
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	43
2.1 Клиническое исследование .....	44
2.2 Характеристика пациентов.....	45
2.3 Физикальное и лабораторное исследование.....	46
2.4 Рентгенологические методы исследования .....	48
2.5 Функциональные и лабораторные методы исследования.....	51
2.6 Иммунологическое исследование .....	54
2.7 Статистическая обработка результатов .....	57
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ.....	58
3.1 Характеристика группы пациентов с ГП.....	58
3.2 Характеристика группы пациентов с саркоидозом .....	63
ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ЛАБОРАТОРНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ.....	68
4.1 МикроРНК как маркеры прогрессирования ГП.....	68
4.2 Исследование уровня цитокинов (ФНО, ИФН $\gamma$ ) у пациентов с ГП .....	73
4.3 МикроРНК-маркеры прогрессирования саркоидоза .....	75
4.4 Исследование уровня цитокинов (ФНО, ИФН $\gamma$ ) у пациентов с саркоидозом..	79
4.5 Клинические примеры .....	81
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	89

ВЫВОДЫ .....	94
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	95
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	96
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	97

## ВВЕДЕНИЕ

### **Актуальность темы исследования и степень ее разработанности**

Интерстициальные заболевания легких (ИЗЛ) – гетерогенная группа болезней, которые характеризуются поражением легочного интерстиция и дистальных отделов дыхательных путей [77]. Существует более 200 диффузных заболеваний легких с известным и неизвестным этиологическими факторами, которые различаются по клиническим проявлениям, течению, прогнозу, эффективностью лечения, рисками летальных исходов и осложнений. Многие ИЗЛ могут приобретать прогрессирующее течение, несмотря на проводимую терапию, при этом прогрессирование заболевания, как правило, связано с продолжающимся фиброобразованием в легочной ткани. Одним из таких ИЗЛ является идиопатический легочный фиброз (ИЛФ), который характеризуется неблагоприятным прогнозом течения заболевания, со средней продолжительностью жизни от 3 до 5 лет и неэффективностью противовоспалительной терапии, диагностика которого является наиболее сложным процессом, а диагностические ошибки могут вести к фатальным последствиям. В настоящее время сохраняется высокий интерес к ИЗЛ с фиброзным фенотипом (ФФ), отличных от ИЛФ [2]. Такой фенотип ИЗЛ при отсутствии своевременно назначенной антифибротической терапии по прогнозам близок к идиопатическому легочному фиброзу (ИЛФ) по темпам снижения легочной функции, риску летального исхода и обострений [148]. Распространенность ИЗЛ ПФФ составляет около 20 больных на 100 000 населения в Европе, или 13–40% всех ИЗЛ [44, 50, 156]. Гиперчувствительный пневмонит представляет собой диффузное ИЗЛ, вызванное сенсibilизацией к органической пыли животного или растительного происхождения у восприимчивых людей [147]. Клиническая симптоматика ГП зависит не только от интенсивности и продолжительности антигенного воздействия, но и состояния иммунологической защиты организма, что определяет разные варианты течения болезни. Необходимость повышения прогностической ценности привела к появлению новой

классификации заболевания на фибротический и нефибротический фенотипы в зависимости от преобладающих патологических изменений на высокоразрешающей компьютерной томографии (ВРКТ) легких и/или при гистологическом исследовании биоптатов легочной ткани так как такая классификация имеет прямую корреляцию с прогнозом [58]. Однако неоднородность клинических проявлений, типа и продолжительности воздействия, культурных традиций, географических условий и факторов риска хозяина по-прежнему способствуют недостаточной диагностике ГП.

Саркоидоз органов дыхания, также относящийся к ИЗЛ, в 70% случаев протекает бессимптомно, но у (10% – 20%) пациентов в результате длительно сохраняющегося воспаления, может развиваться фиброз легких, что существенно снижает качество жизни пациентов и приводит к развитию дыхательной недостаточности [15].

В воспалительном процессе при ИЗЛ принимают участие большое количество провоспалительных и противовоспалительных медиаторов, от взаимодействия которых зависит исход воспаления и формирование фиброза. В настоящее время известно, что раннее начало противовоспалительной терапии может предотвратить или замедлить формирование легочного фиброза. В настоящее время ведется активный поиск биомаркеров, позволяющих прогнозировать и определить раннее начало процесса фиброобразования, для которое могло бы стать ориентиром для раннего назначения антифибротических препаратов, а также стать критерием ее эффективности. Актуальность настоящего исследования определяется попыткой найти надежные клинические показатели и биомаркеры, позволяющие определить раннее начало процесса фиброобразования при ИЗЛ, а также послужит ориентиром при формировании и коррекции терапии больных ИЗЛ.

### **Цель исследования**

Исследовать основные клиничко-лабораторные показатели пациентов с фибротическим фенотипом хронического ГП и саркоидоза органов дыхания и

выявить маркеры-предикторы фиброзирования, которые позволят своевременно провести коррекцию терапии.

### **Задачи исследования**

1. Охарактеризовать клинические проявления фибротического фенотипа у пациентов с хроническим ГП и саркоидозом органов дыхания.
2. Оценить связь клинико-рентгенологических показателей с данными спирометрии и диффузионной способности легких при хроническом ГП и саркоидозе.
3. Оценить различия уровня цитокинов (ФНО, ИФН $\gamma$ ) в сыворотке крови у пациентов с наличием или отсутствием клинико-рентгенологических признаков фибротического фенотипа при хроническом ГП и саркоидозе органов дыхания.
4. Оценить роль микроРНК как биомаркеров фиброзирования легочной ткани у пациентов с хроническим ГП и саркоидозом.

### **Научная новизна**

Впервые показано повышение экспрессии микроРНК у пациентов с фибротическим фенотипом хронического ГП и саркоидоза органов дыхания, которые могут послужить диагностическими маркерами процесса фиброзирования легочной ткани: у больных с ФФ ГП – повышение экспрессии miR-106b, miR-150, miR-22; у больных с ФФ саркоидоза – достоверное повышение экспрессии miR-15, miR-22, miR-150 и снижение экспрессии miR-193a, miR-17-5.

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

Результаты проведенного исследования расширяют представление о клинико-лабораторных характеристиках хронического ГП и саркоидоза с ФФ и возможностях ранней диагностики для своевременного назначения антифибротической терапии. Выявленная корреляционная зависимость между основными функциональными показателями и определенными микроРНК дает

новые возможности для диагностики ФФ у пациентов с хроническим ГП и саркоидозом.

### **Методология и методы исследования**

В представленной работе предпринята попытка поиска прогностических маркеров избыточного фиброобразования в легких.

Объектом исследования являются пациенты с ГП и саркоидозом органов дыхания. Предметом исследования являются клиничко-рентгенологические, функциональные, лабораторные, иммунологические показатели больных с ГП и саркоидозом органов дыхания. Гипотеза исследования представляет поиск маркеров фиброобразования при хроническом ГП и саркоидозе органов дыхания. Для решения поставленных задач были использованы эмпирические (наблюдение, описание) и универсальные методы научного познания.

В исследование были включены 230 пациентов с ГП и саркоидозом органов дыхания, находившиеся на лечении в клинике ФГБНУ «ЦНИИТ» с 2019 по 2022 г. Диагноз был установлен на основании клинических рекомендаций РРО по диагностике и лечению гиперчувствительного пневмонита, клинических рекомендаций РРО по диагностике и лечению саркоидоза, а также международных рекомендаций ERS/ATS/JRS/ALAT по диагностике и лечению гиперчувствительного пневмонита и Fleischner Society White Paper 2020 г.

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

1. Для пациентов с фибротическим фенотипом ГП и саркоидоза органов дыхания в отсутствие антифибротической терапии в отличие от пациентов без фиброза по данным КТ ОГК в исходе болезни характерны более выраженные клинические проявления;

2. У пациентов с ГП, имеющих распространенные фиброзные изменениями в легких на КТ ОГК, показатели DLCO были значимо ниже по сравнению с больными без фиброзных изменений в легких;

3. При фибротическом фенотипе ГП повышается экспрессия микроРНК: miR-106b, miR-150, miR-22. Для больных с фибротическим фенотипом саркоидоза характерно повышение экспрессии miR-15, miR-22, miR-150 и снижение miR-193a, miR-17-5.

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Содержание диссертации соответствует паспорту научной специальности 3.1.29. Пульмонология (медицинские науки) и направлениям исследования: 1. Изучение органов дыхания, газообменной и нереспираторной функции легких в эксперименте и у человека (в эмбрио- и филогенезе, в возрастном аспекте, как в норме, так и при различных патологических состояниях) с использованием морфологических, гистохимических, молекулярно-биологических, инструментальных, культуральных, микробиологических и других методов исследований; 2. Клинические, биохимические, биофизические, иммунологические исследования системы защиты органов дыхания в норме и при различных патологических состояниях

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

Достоверность полученных результатов обеспечена анализом научной литературы по теме исследования, достаточным объемом проведенного исследования, использованием методик, адекватных поставленным задачам с применением современных методов статистического анализа.

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на 2 международных и всероссийских научных конференциях, в том числе на ежегодной научной конференции молодых ученых с международным участием в ФГБНУ «ЦНИИТ» 2020 г.; международном конгрессе Европейского респираторного общества (ERS) 2020 г.

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

Результаты работы внедряются в научную и практическую деятельность отдела дифференциальной диагностики туберкулеза легких и экстракорпоральных методов лечения, а также в программу последипломного обучения врачей-пульмонологов РФ, клинических ординаторов и аспирантов в ФГБНУ «ЦНИИТ».

### **Связь темы диссертационной работы с планом научных работ организации**

Диссертационное исследование проводилось в рамках научно-исследовательской работы отдела дифференциальной диагностики туберкулеза легких и экстракорпоральных методов лечения ФГБНУ ЦНИИТ ««Особенности течения различных заболеваний бронхо-легочной системы в современных условиях»» (регистрационный № 122041100233-3).

### **Личный вклад автора**

Автор принимал участие на всех этапах работы от выбора темы исследования, постановки и реализации его задач, до обсуждения и выводов, сделанных в научных публикациях и докладах, а также внедрения в практическую деятельность. Автором лично проведен сбор исследовательского литературного, клинического и лабораторного материала, дано научное обоснование. Диссертация и автореферат написаны автором лично.

### **Публикации**

По результатам диссертации опубликовано 3 научные работы в научных рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации, из них 3 в журналах, входящих в международную реферативную базу данных Scopus.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на 113 страницах и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных

исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы. Работа иллюстрирована 15 рисунками и 20 таблицами, 2 клиническими примерами. Список литературы содержит 157 источников, из них 22 отечественных и 135 зарубежных авторов.

*Выражаю искреннюю признательность и благодарность за поддержку и неоценимую помощь по вопросам иммунологического исследования при подготовке диссертационного исследования заведующему отделом иммунологии д.м.н Еремееву В.В. и заведующей лабораторией биотехнологии к.м.н. Шепельковой Г.С.*

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Интерстициальные заболевания легких (ИЗЛ) – гетерогенная группа болезней, которые характеризуются поражением легочного интерстиция и дистальных отделов дыхательных путей [77]. Существует более 200 диффузных заболеваний легких с известным и неизвестным этиологическими факторами, которые различаются по клиническим проявлениям, течению заболевания, прогнозу, эффективностью лечения рисками летальных исходов и осложнений и выздоровлению. На рисунке 1 представлена классификация наиболее часто встречающихся ИЗЛ.

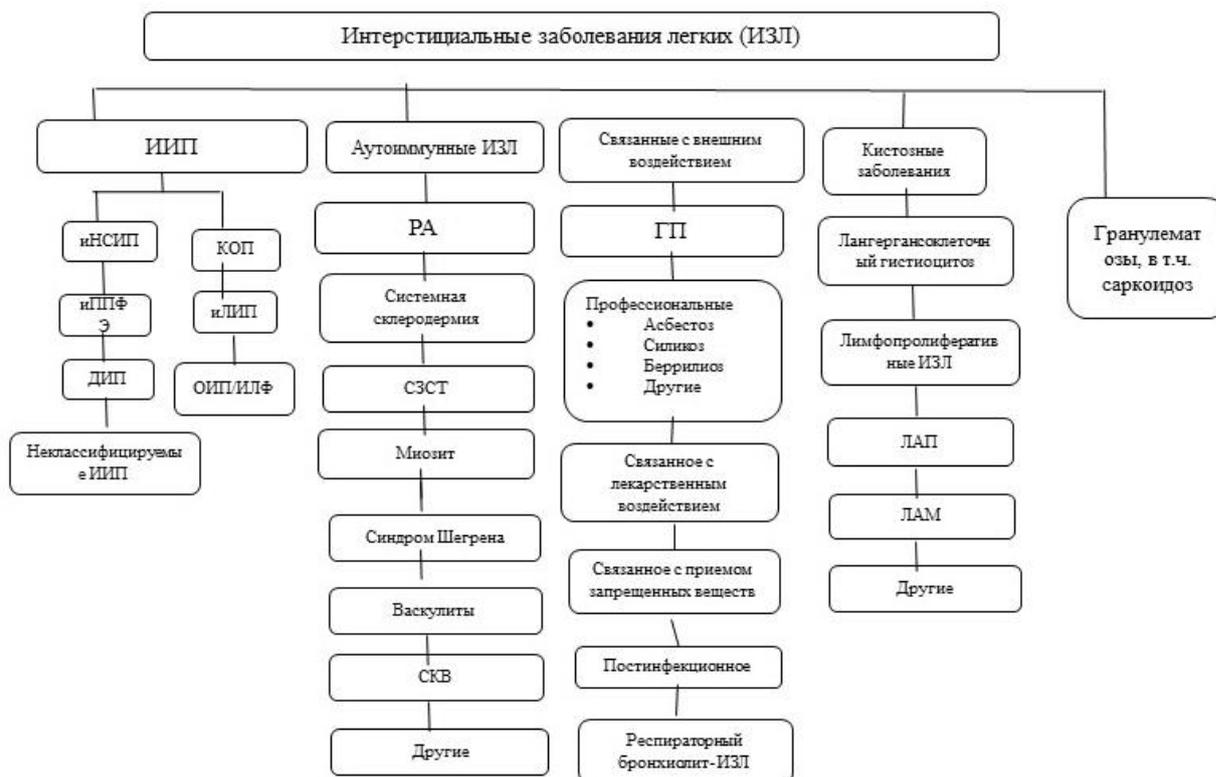


Рисунок 1 – Классификация ИЗЛ по ERS/ATS/JRS/ALAT 2022 г. [62]

Большинство из представленных заболеваний могут начинаться без симптоматики (как, например, саркоидоз), так и с прогрессированием одышки, кашля и приобретать прогрессирующее течение, которое связано с продолжающимся фиброобразованием в легочной ткани, при отсутствии

должной терапии. Одним из таких ИЗЛ является идиопатический легочный фиброз (ИЛФ), который характеризуется неблагоприятным прогнозом течения заболевания, со средней продолжительностью жизни от 3 до 5 лет и неэффективностью противовоспалительной терапии. С начала 21 века в структуре ИЗЛ произошли многочисленные перемены: на смену прочно укоренившемуся термину «идиопатический фиброзирующий альвеолит» пришли «идиопатические интерстициальные пневмонии» (ИИП). Наиболее распространенным вариантом ИИП считается идиопатический легочный фиброз (ИЛФ). В 2011 г. под эгидой American Thoracic Society, European Respiratory Society, Japanese Respiratory Society, Latin American Thoracic Association (ATS/ERS/ JRS/ALAT) было подготовлено первое доказательно-обоснованное клиническое руководство по диагностике ИЛФ, в котором было рекомендовано устанавливать диагноз ИЛФ на основании выявления картины (паттерна) обычной интерстициальной пневмонии (ОИП) в легких, полученной при высокоразрешающей компьютерной томографии (ВРКТ) и/или при морфологическом исследовании биоптата ткани легкого после исключения известных причин болезни. В 2016 г. были опубликованы клинические рекомендации Российского респираторного общества (РРО). Характерная картина ОИП при ВРКТ, как и типичная гистологическая картина, является важным признаком ИЛФ. Однако такая же картина может наблюдаться в случаях поражения легких при системных аутоиммунных процессах, лекарственно-индуцированном поражении легких [21].

В настоящее время ИЗЛ, отличные от ИЛФ, получили наименование ИЗЛ с прогрессирующим фиброзным фенотипом (ПФФ) [21]. Такой фенотип ИЗЛ при отсутствии антифибротической терапии очень близок к идиопатическому легочному фиброзу (ИЛФ) по прогнозу, темпам снижения легочной функции, риску летального исхода и обострений [2]. Распространенность ИЗЛ ПФФ составляет около 20 больных на 100 000 населения в Европе, или 13–40 % всех ИЗЛ [44, 148, 156]. Прогрессирующий фиброз легких может формироваться на различных этапах естественного течения многих ИЗЛ, так по данным исследования PROGRESS 27% не ИЛФ-ИЗЛ соответствует критериям прогрессирования.

## 1.1 Эпидемиология, факторы риска ИЗЛ с фиброзным фенотипом

ИЛФ является наиболее широко изученным и наиболее распространенным ИЗЛ. ИЛФ относится к ИЗЛ с наиболее неблагоприятным прогнозом течения заболевания. Средняя продолжительность жизни больных с ИЛФ при отсутствии антифибротической терапии составляет от 3 до 5 лет. Чаще всего ИЛФ возникает на 6-м и 7-м десятилетиях жизни. Большинство заболевших являются курильщиками или экс-курильщиками; мужчины болеют чаще, чем женщины [6, 113]. По разным данным, заболеваемость ИЛФ составляет от 6,8 до 63 случаев на 100 тыс. населения в [4, 8, 64]. Согласно предварительным данным регистра, распространенность ИЛФ в Российской Федерации составляет около 8–12 случаев на 100 тыс., а заболеваемость – 4–7 случаев на 100 тыс. [68]. В последнее время, активное назначение антифибротических препаратов позволило увеличить среднюю продолжительность жизни и качество жизни пациентов и замедлить процесс фибрирования в легочной ткани. В настоящее время, диагностика ИЛФ основана на клинико-рентгенологических критериях и ассоциируется с картиной ОИП по данным ВРКТ. Морфологическая верификация не проводится, так как связана с высоким риском осложнений и летальных исходов.

Существуют клинические и патогенетические параллели между ИЛФ и другими ИЗЛ с прогрессирующим фиброзным фенотипом, которые имеют более благоприятный прогноз в течении заболевания и более высокую эффективность лечения. Однако в 20% случаев ИЗЛ может развиваться прогрессирующий фиброз, приводящий к развитию тяжелой дыхательной недостаточности, с формированием картины ОИП по данным КТ ОГК и сопряженный с высоким риском развития осложнений при морфологической верификации.

Среди ИЗЛ ПФФ в настоящее время наибольший интерес для пульмонологов представляют гиперчувствительный пневмонит и саркоидоз, как наиболее часто встречающиеся ИЗЛ.

Гиперчувствительный пневмонит представляет собой диффузное интерстициальное заболевание легких, вызванное сенсibilизацией к

многочисленным вдыхаемым антигенам (органической пыли животного или растительного происхождения) у восприимчивых людей [147]. Клиническая симптоматика ГП зависит не только от интенсивности и продолжительности антигенного воздействия, но и состояния иммунологической защиты организма, что определяет разные варианты течения болезни: острое, подострое, хроническое. Как правило, четкой временной зависимости между развитием клинической картины заболевания и проникновением антигена не наблюдается. Болезнь развивается постепенно, что существенно затрудняет своевременную диагностику и выявление взаимосвязи между симптомами заболевания и экзогенным воздействием [69]. Заболеваемость и распространенность ГП трудно оценить, потому что некоторые случаи либо неправильно диагностируются, либо не распознаются. Распространенность заболевания варьирует в зависимости от географических, сезонных и климатических факторов. В Европе ГП диагностируется в 4- 15% среди всех случаев ИЗЛ. По данным исследования, проведенного в Дании, это было третье по распространенности ИЗЛ после идиопатического легочного фиброза (ИЛФ) и ИЗЛ, ассоциированных с заболеванием соединительной ткани (ЗСТ-ИЗЛ) [63]. Заболевание чаще встречается в возрасте 50-60 лет [113], хотя также могут болеть молодые люди и дети [6]. Согласно данным регистров интерстициальных заболеваний легких (ИЗЛ) 3 европейских стран, доля ГП среди всех ИЗЛ составляет 4–15 % [148], а по данным популяционного исследования в Новой Мексике – таковая еще ниже (около 2 %) [156]. По данным эпидемиологического исследования, проведенного в США, распространенность ГП составляет 1,67–2,71 случая на 100 тыс., а заболеваемость – 1,28–1,94 случая на 100 тыс. в год [113]. Распространенность ГП увеличивается с возрастом. Так, среди лиц в возрасте 0–9 лет данный показатель составляет 0,95 случая на 100 тыс., а среди лиц в возрасте старше 65 лет – 11,2 случая на 100 тыс. [113]. Однако распространенность и заболеваемость ГП очень сложно оценить с достаточной точностью, т. к. в большинстве случаев заболевание не диагностируется или диагностируется неправильно. Кроме того, распространенность заболевания сильно различается в зависимости от страны и

региона проживания, что связано с географическими, климатическими и сезонными факторами. Например, «легкое фермера» – одна из наиболее частых форм ГП с выраженными сезонными и географическими вариациями – чаще всего регистрируется в конце зимы (когда для корма скота используется заготовленное сено) в регионах с обильными дождями в осеннее время и суровой зимой. По предварительным оценкам, «легкое фермера» развивается у 1–19 % фермеров, имеющих контакт с заплесневелым сеном [6], а «легкое любителей птиц» – у 6–20 % лиц, контактирующих с птицами [4]. По данным F. Morell et al. частота ГП равняется 6,2 на 100 000 у лиц, пользующихся перьевыми подушками, и 54,6 на 100 000 у птицеводов. Среди всех интерстициальных заболеваний легких в Индии в 2012–2015 годах ГП был обнаружен в 513 из 1084 наблюдений (47,3%), причем причиной его возникновения в 48,1% стало использование в помещениях систем кондиционирования воздуха. По данным S. Dhooria et al., из 803 страдающих интерстициальными заболеваниями легких в период с 2015 по 2017 год ГП был выявлен в 10,7% наблюдений. У детей ГП может составлять до 50% от всех редко встречающихся детских интерстициальных пневмоний [8].

В современную классификацию ПФФ ИЗЛ также входит саркоидоз. Саркоидоз является гранулематозным заболеванием неизвестной этиологии, характеризующимся наличием неказеозных эпителиоидно-клеточных гранул, при котором чаще всего поражаются легкие и внутригрудные лимфатические узлы. Исход заболевания сильно варьирует, переходя от спонтанного разрешения к хроническому воспалению, с последующим развитием фиброза или связанной с ним дыхательной недостаточностью, или с тем и другим. При хроническом легочном саркоидозе воспаление может трансформироваться в фиброз в 10-20% случаев [40], вызывая терминальную стадию фиброзной болезни легких.

Саркоидоз встречается во всем мире, обычно наблюдается у молодых людей и людей среднего возраста, хотя он может поражать людей всех возрастов. Распространенность саркоидоза в мире представлена по-разному [36, 125]. Саркоидоз встречается во всем мире, у представителей обоего пола, всех рас и возрастов. В Москве по данным на 2012 год соотношение мужчин и женщин

составило 1:2,8, средний возраст мужчин был 42 года, а женщин — 53 года. Распространенность саркоидоза составляла 2,85 на 100 тыс. населения с колебаниями от 8,2 до 1,8 на 100 тыс. населения по административным округам столицы. Среди мужчин наибольший показатель распространенности составил 9,0 на 100 тыс. мужского населения, а среди женщин — 7,8 на 100 тыс. женского населения [76]. За период с 1998 по 2008 годы заболеваемость и распространенность СОД в Санкт-Петербурге изменялись соответственно от 2,6 до 3,9 и от 16,5 до 25,1 на 100 тыс. населения. Саркоидоз преимущественно диагностировался у женщин молодого и зрелого возраста (66%). Синдром Лефгрена наблюдался у 22,0% пациентов [11]. В Омске за период с 2003 по 2011 г. наблюдалось 295 пациентов саркоидозом, все диагнозы у которых были верифицированы, распространенность составила 24,6 на 100 тыс. населения, отношение женщин к мужчинам составляло 1,95. При этом I рентгенологическая стадия заболевания диагностирована у 10,6% пациентов, II стадия — у 75,3% пациентов, III стадия была у 9,3% пациентов, IV стадия — у 4,8% пациентов. Классический синдром Лефгрена (внутригрудная лимфаденопатия, узловатая эритема, артралгии, лихорадка) был отмечен в 11 (3,73%) случаях [22]. В Республике Татарстан в 2014 г. распространенность саркоидоза была 51,35 на 100 тыс. населения, а заболеваемость — 2,72 на 100 тыс. населения. Женщины составили 71,1%, они были достоверно старше мужчин, у них преобладала рентгенологическая стадия I, а синдром Лефгрена встречался в 3 раза чаще. За последние 20 лет доля верифицированных случаев саркоидоза увеличилась с 29,2 до 58,2% [13]. Заболеваемость саркоидозом призывников составила 1,1‰, а военнослужащих по контракту — 3,5‰. При этом в структуре заболевших преобладали контрактники — 81,4% [1]. В США в 2013 заболеваемость и распространенность саркоидоза была значительно выше среди афроамериканцев (17,8 и 141,4 на 100 тыс., соответственно) чем среди белых (8,1 и 49,8), среди испанцев (4,3 и 21,7) или лиц азиатского происхождения (3,2 и 18,9). У женщин вероятность саркоидоза была в 2 раза в выше, при самой высокой распространенности саркоидоза среди афроамериканских женщин (178,5 на 100

тыс.населения). Семейный саркоидоз встречается со средней частотой 9,5% (от 4,6% до 16,1%) с наибольшей частотой среди французов, афроамериканцев, голландцев и ирландцев [56]. В Республике Татарстан частота случаев семейного саркоидоза составляла 3,1% [145].

Факторы риска развития саркоидоза окончательно не установлены. Решающую роль в развитии заболевания играет воздействия факторов окружающей среды на генетически предрасположенный организм [33]. Исследования геномных ассоциаций выявили наследственные факторы, влияющие на вероятность развития саркоидоза и на многообразие его клинических проявлений. Роль генетических факторов подтверждают случаи семейного саркоидоза [56]. К вероятным внешним факторам (триггерам) развития саркоидоза относят присутствие ряда бактерий — микобактерий туберкулеза с измененными свойствами, которые при этом не вызывают развитие туберкулеза [33], пропионовокислых бактерий (*Propionibacterium acnes*, *Propionibacterium granulosum*) [14], возбудителя Лаймской болезни *Borrelia burgdorferi* [55]. Системный обзор литературы и метаанализ подтвердили потенциальную роль именно этих возбудителей, как триггеров саркоидоза, тогда как данные о роли микоплазм, риккетский и вирусов оказались неубедительными. Фактором развития саркоидной реакции или саркоидоза является применение интерферонов и индукторов интерфероногенеза. Интерфероны являются иммуномодуляторами, используемыми при различных заболеваниях, включая инфекцию вирусом гепатита С, рассеянный склероз (РС) и опухолевые заболевания, а в России для лечения простудных и вирусных заболеваний. Многие наблюдения показывают, что возникновению саркоидоза предшествовали стрессовые события (смерть близкого, развод, проблемы на работе и другие). Легочный фиброз представляет собой редкий и все еще плохо изученный вариант саркоидоза, приводящий к ухудшению качества жизни пациента в связи с развитием хронической дыхательной недостаточности, легочной гипертензии, легочного аспергиллеза или других инфекций [35]. Фибротический саркоидоз чаще всего описывается как IV рентгенографическая стадия по J.G. Scadding [35], однако неоднородность

поражения не всегда соответствует стадиям классификации. Существует мнение, что развитие фиброза при саркоидозе не всегда является признаком хронического заболевания. С одной стороны, фиброз может возникать и на ранней стадии заболевания, а с другой – наличие фиброза не обязательно означает, что воспаление является хронически активным. И хронический активный фиброзирующий процесс, и остаточное фиброзное повреждение приводят к долгосрочным нарушениям и подпадают под категорию хронического саркоидоза. Проводятся исследования является ли фиброз преимущественно ранней или поздней стадией заболевания, а оценка взаимосвязи между воспалением и фиброзом будет способствовать пониманию иммунопатогенеза саркоидоза [148].

По сравнению с пациентами с саркоидозом, по данным Hambly и соавт. у пациентов с другими ИЗЛ с ПФФ (идиопатическая неспецифическая интерстициальная пневмония, НСИП, профессиональные ИЗЛ) скорость прогрессирования фибротических изменений в легких по данным ВРКТ была выше (в 41-56% случаев) [35]. В США с 1999 по 2010 гг. средняя скорректированная по возрасту смертность от саркоидоза составила 2,8 на 1 млн человеко-лет [131]. На поражение легких при легочных фиброзах приходится до трех четвертей причин смерти в США и Европе [138].

## **1.2 Патогенез ИЗЛ с фибротическим фенотипом**

### **1.2.1 Особенности патогенеза фибротического варианта гиперчувствительного пневмонита**

Гиперчувствительный пневмонит возникает в результате длительного воздействия мелких частиц (диаметром <5 мкм) на дыхательные пути и запуском иммунологической реакции. В 1962 году Perus и его коллеги впервые связали ГП с образованием сывороточных преципитинов на экстракты сена и плесени и назвали это состояние «легкое фермера» [124]. С тех пор считалось, что даже несколько молекул могут вызывать заболевание. Агенты могут быть как

органическими, так и неорганическими. Органическая группа включает белки и микробы, а неорганическая группа состоит из химических веществ и металлов, которые становятся антигенными после соединения с белками человека. Триггеры заболевания могут существовать на рабочих местах, дома, в местах, связанных с хобби. Количество известных антигенов, вызывающих заболевание, со временем увеличивается. Чаще всего, встречается воздействие нескольких антигенов одновременно [42]. Согласно «гипотезе двух ударов», воздействие антигена действует как индуцирующий фактор, а генетический фон и факторы окружающей среды действуют как стимулирующие факторы риска, приводящие к развитию иммунной реакции, которая приводит к выраженному воспалению альвеол, терминальных бронхиол и интерстиция. Ключевую роль в патогенезе заболевания играют процесс сенсибилизации к антигену и появление клинических симптомов после повторного воздействия антигена [10]. Патогенез заболевания опосредован циркулирующими специфическими антителами IgG (преципитинами) посредством образования комплексов антиген-антитело в реакции гиперчувствительности [2, 148, 156] III и IV типа (по классификации Gell, Coombs, 1969). Эта гипотеза была поставлена под сомнение отсутствием преципитинов у некоторых пациентов, отсутствием васкулита и нейтрофильных инфильтратов в образцах тканей, а также отсутствием гистологических особенностей ГП у животных моделей, которым вводили преципитины и подвергали воздействию провоцирующих антигенов. Полиморфизмы генов, кодирующих молекулы, участвующие в процессинге и презентации антигена, особенно те, которые расположены в области II главного комплекса гистосовместимости, по-видимому, повышают восприимчивость к процессу патологической сенсибилизации. Более того, ответ подмножества эффекторов Т-клеток, по-видимому, влияет на гистологические паттерны, при этом сдвиг в сторону активности Th2 коррелирует с устойчивым воспалением и фиброзной реакцией. Считается, что помимо провоцирующих антигенов воздействие других внешних агентов, таких как бактерии, грибы, клещи и другие инертные частицы и химические вещества, способствуют развитию ГП [42].

Однако, на ранних этапах развития заболевания основное значение имеют реакции III типа (иммунокомплексные). Образование иммунных комплексов (ИК) происходит в интерстиции при взаимодействии ингалируемого антигена и IgG. Локальные отложения ИК вызывают острое повреждение интерстиция и альвеол, характеризующееся нейтрофильным альвеолитом и повышением сосудистой проницаемости. ИК ведут к активации системы комплемента и альвеолярных макрофагов. Активные компоненты системы комплемента повышают проницаемость сосудов (C3a) и оказывают хемотаксическое действие на нейтрофилы и макрофаги (C5a). Активированные нейтрофилы и макрофаги вырабатывают и высвобождают провоспалительные и токсичные продукты, такие как кислородные радикалы, гидролитические ферменты, производные арахидоновой кислоты, цитокины (такие как интерлейкин-1 – IL-1, фактор некроза опухоли  $\alpha$  – TNF- $\alpha$ ). Эти медиаторы приводят к повреждению и некрозу клеток и матричных компонентов интерстиция, усиливают острый воспалительный ответ организма и вызывают приток лимфоцитов и моноцитов, которые в дальнейшем поддерживают реакции гиперчувствительности замедленного типа. Иммунные реакции, опосредованные T-лимфоцитами (IV тип), включают CD4<sup>+</sup> T-клеточную реакцию гиперчувствительности замедленного типа и CD8<sup>+</sup> T-клеточную цитотоксичность. Реакции замедленного типа развиваются через 24–48 часов после экспозиции антигена. Цитокины, высвободившиеся в результате иммунокомплексного повреждения, особенно TNF- $\alpha$ , индуцируют экспрессию адгезивных молекул на клеточных мембранах лейкоцитов и эндотелиальных клеток, что значительно увеличивает последующую миграцию лимфоцитов и моноцитов в очаг воспаления. Отличительной особенностью реакций замедленного типа является активация макрофагов интерфероном  $\gamma$ , секретируемым активированными лимфоцитами CD4<sup>+</sup>. Продолжающаяся антигенная стимуляция поддерживает развитие реакций замедленного типа и ведет к формированию гранулем и активации фибробластов ростовыми факторами и в итоге к избыточному синтезу коллагена и интерстициальному фиброзу.

Кроме того, данные, полученные в исследованиях, показали, что у некурящих, подвергшихся воздействию этиологически значимых антигенов, уровень специфических антител класса G значительно выше, чем у курильщиков [139]. Никотин подавляет функцию лимфоцитов и макрофагов, нарушая способность альвеолярных макрофагов представлять вдыхаемый антиген лимфоцитами и снижая клеточный иммунный ответ, необходимый для развития ГП. Тем не менее, у курильщиков развивается хронически текущий ГП, вероятно, из-за влияния табака на замедление процессов сенсибилизации и уменьшения воспаления и пролиферации лимфоцитов. Наконец, респираторная вирусная инфекция может способствовать развитию ГП. Считается, что длительное воздействие провоцирующего антигена вызывает прогрессирование заболевания и развитие фиброза при ГП. Perez и его коллеги заметили, что невозможность идентифицировать этиологический фактор ГП независимо связана с более короткой выживаемостью по сравнению с быстрой идентификацией провоцирующего фактора – триггера. Аллергены птиц были наиболее частым провокатором хронического ГП. При фиброзном варианте ГП идентификация причинного фактора может оставаться неизвестной более чем в половине всех случаев [61].

Уровень смертности, связанной с ГП, растет [41], что еще раз подчеркивает необходимость повышения точности и времени диагностики и выявления воздействия, поскольку они имеют решающее значение для улучшения исходов заболевания. Несмотря на расширение знаний, у нас до сих пор нет данных о том, почему некоторые пациенты выздоравливают, а у других прогрессирует фиброз, даже без дальнейшего воздействия этиологически значимого антигена.

Разнообразие антигенов, связанных с этим заболеванием, которое в настоящее время оценивается более чем в 200 [71], и отсутствие стандартизированных методов тестирования на гиперчувствительность создают дополнительные препятствия, поскольку невозможность определить соответствующее воздействие может затруднить диагностику.

### 1.2.2 Особенности патогенеза фибротического саркоидоза

В большинстве случаев саркоидоз протекает благоприятно, однако у некоторых пациентов развивается саркоидоз, ассоциированный с фиброзом легких (САФЛ). Факторы, повышающие риск САФЛ, до конца не изучены, но считается, что они включают генетическую предрасположенность, факторы окружающей среды и эпигенетические изменения. САФЛ – один из типов легочного фиброза, который может перерасти в прогрессирующий легочный фиброз. Необходимы дополнительные исследования, но эксперты ERS/ATS подсчитали, что примерно у 15% пациентов с САФЛ развивается легочный фиброз. Однако САФЛ имеет ряд особенностей, отличающих его от других форм ИЗЛ с фиброзным фенотипом. Чаще всего саркоидоз разрешается спонтанно или при проведении терапии, но примерно в 15% случаев болезнь прогрессирует до фиброзной стадии [47].

Интенсивный иммунный ответ ответственен за клиническое проявление САФЛ у генетически предрасположенных лиц. На течение саркоидоза влияет различный спектр генетических факторов. Генетические профили указывают на разницу между пациентами с прогрессирующим САФЛ и пациентами с самостоятельно регрессирующим заболеванием, причем многие гены, участвующие в активации иммунной системы и защиты, активируются в первой группе, аналогично тому, что наблюдается у пациентов с гиперчувствительным пневмонитом (ГП) [76].

Несмотря на разницу в патогенезе фибротических заболеваний, в частности интерстициального легочного фиброза (ИЛФ) и саркоидоза, предполагается, что к развитию и прогрессированию фиброза приводят сходные механизмы: активация альвеолярных макрофагов возросшим пулом Т-хелперов 2-го типа. Изменения по данным компьютерной томографии (КТ) органов грудной клетки (ОГК), характерные для фибротического фенотипа саркоидоза, включают ретикулярные изменения, уменьшение объема легких или нарушение архитектоники легочных

сосудов, тракционные бронхоэктазы, перибронхиальные/периваскулярные изменения [19].

Полногеномные исследования ассоциаций и другие генетические исследования выявили однонуклеотидные полиморфизмы (ОНП), связанные с повышенным риском САФЛ. ОНП, кодируют белки для восстановления тканей после повреждения (GREM1): белок 15, содержащий домен рекрутирования каспаз (CARD15), также известный как белок 2, содержащий нуклеотидсвязывающий домен олигомеризации (NOD2), и цитокиновый трансформирующий фактор роста (TGF)  $\beta$ 3 [50]. Исследование, проведенное коллективом авторов из Нидерландов, показало, что полиморфизм промотора простагландин-эндопероксидсинтетазы 2 (PTGS2) связан с повышенным риском САФЛ [52]. Аннексин А11 (ANXA11) представляет собой кальций-зависимый мембраносвязывающий белок, который связан с риском развития саркоидоза [28]. У пациентов с врожденными дефектами ANXA11 может наблюдаться измененная активация CD8<sup>+</sup> и CD19<sup>+</sup> [53]. В небольшом исследовании чернокожих пациентов с саркоидозом SNP ANXA11 были связаны с повышенной восприимчивостью к легочному фиброзу. У носителей генотипа T rs1049550 риск развития легочного фиброза был в 4,5 раза выше [53].

Противовоспалительный цитокин TGF- $\beta$  вызвал особый интерес, поскольку SNP TGF- $\beta$  различаются у пациентов с острым ремиттирующим и хроническим прогрессирующим саркоидозом [153]. Полиморфизмы в генах TGF- $\beta$ 2 или TGF- $\beta$ 3 были связаны с фиброзным саркоидозом [153], но не были подтверждены в больших многоцентровых когортах. Ген человеческого лейкоцитарного антигена класса II на антигенпрезентирующих клетках вовлечен в прогрессирование САФЛ [153]. Была отмечена связь между вариантом гена бутирофилин-подобного-2 и повышенным риском SAPF [153], но эта связь остается неопределенной.

Предполагается, что САФЛ является следствием хронического гранулематозного воспаления. Однако только у небольшого числа пациентов (20%) с саркоидозом развивается САФЛ, что позволяет предположить, что в его развитии участвуют механизмы, отличные от тех, которые лежат в основе

саркоидоза. Генетические исследования расширили понимание фиброзной трансформации. Сейчас задача состоит в том, чтобы определить, как восприимчивые аллели взаимодействуют с факторами окружающей среды и управляют клеточными механизмами для развития фенотипа высокого риска.

Функциональные тесты дополняют генетические исследования. В недавнем исследовании уровни TGF- $\beta$  в БАЛ не коррелировали со стадиями по Scadding [84]. Однако когорта с фибротическим вариантом саркоидоза (стадия IV) была небольшой, поэтому необходимы более масштабные исследования. Другие цитокины также могут быть важны, включая IL-5, который был значительно выше в сыворотке пациентов с фибротическим заболеванием по сравнению с нефибротическим [35]. В том же исследовании была продемонстрирована тенденция к более высоким уровням IL-7 среди пациентов с фиброзом. Дальнейшие исследования, изучающие ранние и поздние изменения в уровнях цитокинов, прояснят, вносят ли эти изменения вклад в патофизиологию или являются просто маркером фиброзного саркоидоза.

Саркоидоз характеризуется гранулематозным воспалением из-за нарушения регуляции иммунного ответа. Эксплантированные легкие пациентов с терминальной стадией фиброзного саркоидоза обнаруживают характерные лимфоцитарные инфильтраты [53]. Распространено мнение, что фиброз легких развивается по мере продолжения воспалительного процесса [119]. Этот одновременный двойной процесс способствует повреждению органов-мишеней и усилению симптомов. Иммунный ответ, опосредованный Т-хелперами (Th) 1, приводит к активации фибробластов и секреции фиброгенных цитокинов. Было показано, что циркулирующие уровни интерлейкина (IL)-5 и IL-7 выше, а уровни гранулоцитарно-макрофагальных колониестимулирующих факторов ниже у пациентов с фиброзным и нефиброзным саркоидозом [35].

Механизмы, лежащие в основе развития фиброза при саркоидозе, плохо изучены, но считается, что они включают сложное взаимодействие клеток и иммунных медиаторов.

Считается, что фиброз при саркоидозе возникает в результате хронического гранулематозного воспаления, хотя фиброз может возникать и в процессе разрешения гранулем. Данные, полученные на тканях человека, показывают, что фибробласты притягиваются к периферии гранулем и могут образовывать фиброзную капсулу вокруг гранулемы [35]. Персистирующее гранулематозное воспаление может привести к обширному фиброзному ремоделированию, и на этот процесс, вероятно, влияют профибротические факторы риска, такие как возраст, курение и воздействие факторов окружающей среды. Сам по себе фиброз может закреплять фиброзное ремоделирование за счет увеличения жесткости тканей и состава внеклеточного матрикса [35]. Однако остается неясным, почему у некоторых пациентов с персистирующим воспалением развивается прогрессирующий фиброз, а у других нет.

Считается, что макрофаги и клетки, происходящие из макрофагов, такие как эпителиоидные клетки и гигантские клетки, вызывают фиброз в контексте саркоидоза. Факторы, вырабатываемые этими клетками, привлекают фибробласты, увеличивают их пролиферацию и увеличивают выработку коллагена. Эти факторы включают провоспалительные цитокины, такие как TNF- $\alpha$ , IL-6 и IL-1 $\beta$ , которые активируют профибротические сигнальные каскады в фибробластах [70, 129]. В то время как на ранних стадиях заболевания TGF- $\beta$ 1, продуцируемый T-клетками, способствует разрешению гранулемы [29], на более поздних стадиях заболевания продукция TGF- $\beta$  гигантскими клетками может способствовать фиброзу [70, 67]. Повышенный уровень TNF- $\alpha$  в альвеолярных макрофагах и клетках бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) может отличать пациентов с прогрессирующим и стабильным течением саркоидоза [29]. В другом исследовании уровни TGF- $\beta$  в ЖБАЛ (ЖБАЛ) и в альвеолярных макрофагах существенно не отличались между пациентами с легочным саркоидозом и здоровыми субъектами, но уровни TGF- $\beta$  были увеличены в ЖБАЛ у пациентов с легочным саркоидозом, у которых была нарушена функция легких. по сравнению с теми, у кого была нормальная функция легких [152]. Повышение регуляции путей интерферона и хемокинового лиганда 9, а также подавление сигнальных путей T-

рецептора также играют жизненно важную роль в развитии SAPF [73]. Лиганд 18 хемокина СС активируется у пациентов с фиброзным саркоидозом, а также с другими типами фиброзных ИЗЛ, включая идиопатический легочный фиброз (IPF) [26]. Повышенные уровни индуцируемого гипоксией фактора-1 $\alpha$ , тромбоцитарного фактора роста (PDGF) и фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) также были зарегистрированы при фибротическом саркоидозе [49, 128], что указывает на то, что некоторые профибротические пути являются общими при саркоидозе и ИЛФ.

CD4<sup>+</sup> эффекторные Т-клетки – Th17-клетки участвуют в формировании гранулем и прогрессировании фиброза [136]. Клетки оси Th17 значительно увеличены в периферической крови и БАЛ при активном саркоидозе. Воспалительная ось Th17 также участвует в секреции провоспалительных цитокинов, включая интерферон- $\gamma$  [65]. Неингибированная мишень передачи сигнала рапамицинового комплекса 1 в макрофагах у млекопитающих приводит к чрезмерному образованию гранулем и может привести к прогрессирующему фиброзу саркоидозу [34].

### **1.3 Основные вопросы диагностики ИЗЛ с фиброзным фенотипом**

Классически ГП подразделялся на острый, подострый или хронический, в зависимости от характера воздействия и продолжительности заболевания [54], но клиническая картина у пациентов была неоднородной, независимо от этой категории [37]. Необходимость повышения прогностической ценности привела к появлению новой классификации заболевания на фибротический и нефибротический фенотипы в зависимости от преобладающих патологических изменений на высокоразрешающей компьютерной томографии (ВРКТ) легких и/или при гистологическом исследовании биоптатов легочной ткани так как такая классификация имеет прямую корреляцию с прогнозом [58]. Однако неоднородность клинических проявлений, типа и продолжительности воздействия, культурных традиций, географических условий и факторов риска хозяина по-

прежнему способствуют недостаточному распознаванию и недостаточной диагностике ГП. Кроме того, значительное совпадение признаков с другими клиническими проявлениями помогает объяснить частые ошибочные диагнозы идиопатического легочного фиброза (ИЛФ) и других идиопатических интерстициальных пневмоний [32].

Для фибротического ГП рекомендуется указывать наличие или отсутствие прогрессирования, поскольку от этого зависит тактика лечения. В недавно опубликованных обновленных рекомендациях ATS/ERS/JRS/ALAT по ИЛФ и ПФ-ИЗЛ, а также экспертами Российского респираторного общества были предложены следующие критерии прогрессирования легочного фиброза [62]: у пациентов с ИЗЛ независимо от этиологии известной или неизвестной этиологии, отличной от ИЛФ, у которых имеются рентгенологические признаки легочного фиброза, ПЛФ (прогрессирующий легочный фиброз) диагностируется при наличии по крайней мере двух из следующих трех критериев, возникших в течение последнего года:

- относительное снижение форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ) на  $\geq 10\%$  от должного;
- относительное снижение  $5\% \leq \text{ФЖЕЛ} < 10\%$  от должного и ухудшение респираторных симптомов;
- относительное снижение  $5\% \leq \text{ФЖЕЛ} < 10\%$  от должного и увеличение распространенности фиброза по данным ВРКТ;
- ухудшение респираторных симптомов и увеличение распространенности фиброза по данным ВРКТ.

Экспертами по разработке рекомендаций были приняты только изменения ФЖЕЛ и DLco, поскольку все остальные факторы сильно варьируют или могут изменяться в зависимости от клинической картины.

Хотя в некоторых исследованиях для оценки прогрессирования легочного фиброза использовалось относительное изменение ФЖЕЛ, комитет экспертов предлагает использовать абсолютное изменение, поскольку оно позволяет прогнозировать более неблагоприятные исходы и считается важным предиктором

смертности при ИЛФ [77]. Абсолютное снижение ФЖЕЛ рассчитывается как начальное измерение ФЖЕЛ минус конечное измерение ФЖЕЛ.

Подчеркивая важность ФЖЕЛ как показателя прогрессирования заболевания, ФЖЕЛ использовалась для определения прогрессирования заболевания в недавних исследованиях у пациентов с ППФ, включая исследование INBUILD исследование RELIEF [121] и исследование пациентов с неклассифицируемой ИЗЛ (нИЗЛ) [122].

### **Абсолютное снижение DLCO**

Измерение DLCO не показало достоверных результатов во время клинических испытаний пациентов с легочным фиброзом, вероятно, из-за вариабельности измерений у пациентов, различных методов в лабораториях исследования легочной функции и отсутствия специфичности в отношении прогрессирования легочного фиброза. Несмотря на эти ограничения, изменение DLCO (с поправкой на гемоглобин) является предиктором смертности у пациентов с различными фиброзными заболеваниями легких [127]. При исключении альтернативных причин снижения DLCO, ее можно рассматривать как один из критериев прогрессирования фиброза. Нь-корректированное снижение абсолютных значений DLCO при отсутствии другого объяснения снижения может быть признаком ППФ, особенно когда оно дополняется снижением ФЖЕЛ или увеличением степени фиброза на ВРКТ ОГК.

Комитет экспертов определил клинически значимое снижение DLCO как абсолютное снижение  $\geq 10\%$ , оправдывая более высокий порог на основании технических ограничений, влияющих на воспроизводимость этого измерения. Как и в случае с ФЖЕЛ, предлагается использовать абсолютное изменение, а не относительное.

### **Рентгенологические критерии ФФ**

Визуальное определение прогрессирования легочного фиброза.

Сложность выявления признаков фиброза на ранней стадии развития патологического процесса при ГП остается актуальной проблемой для клинической практики. Необходимость коррекции терапии и своевременного

назначения антифибротических препаратов требует точной интерпретации минимально выраженных признаков легочного фиброза по данным ВРКТ [113]. Нередко затруднения вызывает дифференциальная диагностика между картиной фГП и обычной интерстициальной пневмонией (ОИП), которая является характерным рентгенологическим паттерном при интерстициальном легочном фиброзе (ИЛФ) [5, 20].

Прогрессирование фиброза обычно оценивают визуально, опираясь на типичные рентгенологические признаки фиброза в верхнем, среднем и нижнем отделах легких.

*Рентгенологические критерии фиброзирования при ГП:*

Визуальное определение прогрессирования легочного фиброза.

Прогрессирование фиброза обычно оценивают визуально, опираясь на типичные рентгенологические признаки фиброза в верхнем, среднем и нижнем отделах легких.

Типичная картина ГП включает как минимум один признак патологии легочной паренхимы и один признаки патологии мелких дыхательных путей [62]:

- паренхима: матовое стекло, мозаичная плотность легочной ткани;
- мелкие дыхательные пути: плохо очерченные центрилобулярные очаги, воздушные ловушки;
- распределение: диффузное +/- менее выраженные в базальных сегментах;
- вероятная картина ГП включает менее характерные признаки, описанные при ГП;
- паренхима: неравномерное или слабо выраженное матовое стекло, консолидация, воздушные кисты;
- диффузное распределение, в том числе с преобладанием в базальных отделах и перибронховаскулярное.

Типичная картина фибротического ГП включает характерные признаки ГП и признаки фиброза легочной ткани: ретикулярные изменения, нарушающие легочную архитектуру (нормальное расположение сосудов и видимых бронхов) и/или тракционные бронхоэктазы; +/- сотовое легкое; хаотичное распределение

фиброзных изменений (без отчетливого преобладания) или преобладание в средней легочной зоне (на уровне корней), характерна большая воздушность нижних легочных зон.

Увеличение степени признаков фиброза указывает на прогрессирование. Они могут включать увеличение тракционных бронхоэктазов, появление новых участков «матового стекла» с тракционными бронхоэктазами, появление новых участков ретикуляции, увеличение количества «сотовых» структур и прогрессирующее уменьшение объема легкого.

Размеры и количество «сотовых» структур часто увеличиваются по мере прогрессирования заболевания. Прогрессирование тракционных бронхоэктазов является сильным независимым предиктором повышения смертности при ИЛФ [140]. Однако при ИЗЛ, отличных от ИЛФ, картина прогрессирования вариабельна и может включать эволюцию изменений в легких по типу «матового стекла» в ретикулярные изменения, трансформация ретикуляций в «сотовые структуры» и/или увеличение количества тракционных бронхоэктазов [114].

Динамическая КТВР показана при клиническом подозрении на нарастание фиброза. Оптимальный интервал для последующего наблюдения КТВР для оценки прогрессирования заболевания определяется индивидуально для каждого пациента и составляет от 3 до 12 месяцев.

*Рентгенологические критерии фиброзирующего саркоидоза:*

Фиброз, наблюдаемый при терминальной стадии саркоидоза, преимущественно поражает верхние и средние отделы легких, подобно ГП. Он отличается от обычной интерстициальной пневмонии (ОИП), присутствующей при ИЛФ, при которой фиброзные изменения чаще располагаются в нижних и базальных отделах. Неизвестно, может ли фиброз при саркоидозе возникать в местах, удаленных от места расположения перилимфангитической гранулемы. Небольшая группа пациентов с терминальной стадией фиброзного саркоидоза демонстрирует паттерн, подобный ОИП [33]. Неясно, являются ли пациенты с САФЛ более склонными к развитию ИЛФ или это разновидность терминальной стадии саркоидоза. Ретроспективное исследование 25 пациентов с

клиническими и гистологическими характеристиками саркоидоза и определенным или возможным ОИП при КТВР показало, что клинические проявления заболевания у этих пациентов были сходными с таковыми при ИЛФ [134]. Описан фенотип «комбинированного саркоидоза и ИЛФ» с высоким риском быстрого прогрессирования [39], но его существование остается открытым для дискуссий.

Трудно предсказать долю пациентов с ИЗЛ без ИЛФ, у которых разовьется прогрессирующий фиброзный паттерн; однако результаты ВРКТ у отдельных пациентов считаются предикторами прогрессирования заболевания. Например, в дополнение к наличию «сотовых» структур и тракционных бронхоэктазов, которые связаны с худшим прогнозом, известно, что большая увеличение степени фиброза предсказывает смертность при ИЛФ, ИЗЛ, связанных с ревматоидным артритом, ИЗЛ, связанных с системной склерозом, фиброзным ГП, легочный саркоидоз и неклассифицируемым ИЗЛ [77].

КТ-признаки раннего фиброза легких включают тонкую ретикуляцию, внутридольковые линии и архитектурные искажения (неправильные, извитые легочные сосуды и дыхательные пути или искаженная дольковая анатомия), наблюдаемые либо изолированно, либо наложенные на изменения по типу «матового стекла». Этот паттерн, свидетельствующий об интерстициальных изменениях на ранней стадии, может быть обнаружен случайно при КТ грудной или брюшной полостей, полученной для других целей, включая скрининг рака легкого, и часто связан с гистологическими признаками фиброза. По крайней мере, у 40% пациентов с ИЗЛ наблюдается прогрессирование изменений КТ при наблюдении в течение 4–6 лет [66].

Одним из «золотых стандартов» диагностики ИЗЛ до настоящего времени считалась хирургическая биопсия легкого. Однако, данный вид биопсии связан с высоким риском осложнений и высокой смертности среди пациентов с ИЗЛ ПФФ.

Поиск альтернативы хирургической биопсии мотивирован необходимостью снизить распространенность «неклассифицируемых ИЗЛ», снизить частоту осложнений, связанных с хирургической биопсией, и дать возможность получить репрезентативные образцы легочной ткани у пациентов [30, 38, 123]. Недавнее

внедрение трансбронхиальной криобиопсии (ТБКБ) в качестве многообещающей и более безопасной альтернативы хирургической биопсии легких вызывает значительный интерес в пульмонологическом сообществе [74]. Показания к ТБКБ в контексте мультидисциплинарной дискуссии по сравнению с другими диагностическими процедурами, такими как ВРКТ, традиционная биопсия щипцами и хирургическая биопсия легкого, еще предстоит определить.

В целом показания к ТБКБ при ИЗЛ такие же, как и для хирургической биопсии. Тем не менее, клиничко-радиологические критерии, используемые для отбора пациентов для биопсии, нуждаются в переоценке. Например, хирургическая биопсия обычно не показана пациентам, у которых на ВРКТ определяется типичная картина ОИП. ТБКБ может иногда предлагаться пациентам с типичным рентгенологическим паттерном ОИП с целью сбора более точных данных, предполагающих скрытое облучение или заболевание соединительной ткани [101].

У пациентов с хроническими фиброзирующими ИЗЛ Тяжелое нарушение функции легких (например, прогнозируемая ФЖЕЛ < 50 %, DLCO < 35 %), умеренная или тяжелая легочная гипертензия (расчетное систолическое давление в легочной артерии > 40 мм рт. ст.), некорректируемый риск кровотечения и/или значительная гипоксемия ( $PaO_2$  < 55–60 мм рт. ст.) связаны с более высокой частотой серьезных осложнений после хирургической биопсии и считаются относительными противопоказаниями [130]. В этом контексте хирургическая биопсия имеет невыгодное соотношение риск/польза. Клиническая ценность ТБКБ в этих условиях еще не известна. При других ИЗЛ у пациентов без явного фиброзирующего компонента, но с острым течением, в том числе с выраженным снижением функции легких, можно поставить точный диагноз с помощью ТБКБ.

#### **1.4 Вопросы поиска маркеров-предикторов развития и прогрессирования фиброзных изменений**

Серьезной клинической проблемой является невозможность прогнозировать течение ИЗЛ. Необходимость прогнозирования течения ИЗЛ привела к поиску

новых маркеров. В настоящее время множество исследований во всем мире направлены на выявление возможных маркеров развития легочного фиброза у пациентов с идиопатическим легочным фиброзом. При этом есть лишь единичные исследования оценки маркеров фиброза легких у больных с другими формами интерстициальных болезней легких, в том числе саркоидоза легких. Раннее выявление маркеров фиброза позволит своевременно начать антифибротическую терапию и тем самым увеличить продолжительность жизни и улучшить качество жизни пациентов. Недавние исследования позволили предположить, что микроРНК могут представлять собой потенциальные маркеры для диагностики и прогнозирования развития легочного фиброза [157].

МикроРНК представляют собой небольшие молекулы некодирующей РНК, регулирующие широкий спектр биологических процессов, в том числе и дифференцировку, клеточный рост, иммунный ответ и воспаление [78, 120]. Показано, что отдельные микроРНК играют роль в индукции иммунной защиты и поддержании иммунного гомеостаза. Накапливаются данные, свидетельствующие о том, что микроРНК способны регулировать клеточные процессы при различных патологиях легких [96, 104].

В 2010 г. впервые были продемонстрированы различия между микроРНК, экспрессируемыми в тканях легких пациентов с ИЛФ, по 104 с микроРНК, обнаруженными в легких здоровых людей [103]. Сегодня многие исследования сосредоточены на оценке уровней экспрессии профибротических и антифибротических микроРНК как в начале, так и при прогрессировании ИЛФ; однако полученные результаты по-прежнему показывают разные уровни экспрессии этих микроРНК [27, 59, 112, 150]. В настоящее время ИЛФ является заболеванием с плохим прогнозом, поскольку имеет низкую продолжительность жизни. Таким образом, исследования, оценивающие функцию микроРНК, участвующих в регуляции сигнальных путей во время прогрессирования ИЛФ, могут помочь выяснить механизмы, участвующие в его развитии и патогенезе, что позволит открыть новые диагностические биомаркеры или новые подходы к терапии ИЛФ.

В патогенезе ИЛФ решающую роль играют многочисленные профибротические цитокины, секретируемые макрофагами, альвеолярными эпителиальными клетками, фибробластами и/или миофобластами, в частности, трансформирующий фактор роста  $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ ) [59].

Коллективом авторов из США в 2017 г. было проведено исследование экспрессии микроРНК в фибробластах. Было выявлено снижение miR-101 у пациентов с ИЛФ и у мышей с фиброзом легких, индуцированным блеомицином [85].

Коллективом авторов из Кореи было проведено исследование влияния микроРНК на регуляцию сигнального пути TGF- $\beta$ . Большинство компонентов сигнального пути TGF- $\beta$  подвергаются воздействию одной или нескольких микроРНК. Поскольку сигнальный путь TGF- $\beta$  является первичным фиброгенным медиатором, регуляция сигнальных молекул TGF- $\beta$  с помощью микроРНК, по-видимому, влияет на патогенез легочного фиброза. В этом исследовании изучались профибротические микроРНК, такие как miR-21, miR-424 и антифибротические микроРНК – miR-9-5p, miR-18a-5p, miR-26a, miR-27b, miR-101, miR-153, miR-326, miR-489, miR-1343. В результате исследования было выявлено, что эти микроРНК регулируют влияние TGF- $\beta$ , ослабляя или усиливая его, тем самым, способствуя развитию или ослаблению фиброза легких.[75]

В другом исследовании коллектив авторов изучал экспрессию таких микроРНК, как miR-29, miR-21-5p, miR-92a-3p, miR-26a5p, let-7d-5p. Был выявлен дисбаланс между перечисленными микроРНК, в связи с чем, эти молекулы могут рассматриваться в качестве потенциальных мишеней при решении вопроса об антифибротической терапии при ИЛФ [25].

В эпителиальной ткани легкого блеомицин индуцированных мышей и пациентов с ИЛФ было выявлено снижение уровня экспрессии miR-323, ослабляющей передачу сигналов TGF- $\alpha$  и TGF- $\beta$ . Также было отмечено влияние повышенной экспрессии miR-21 на эти пути. MiR-21 продуцируется фибробластами и способствует гиперпродукции межклеточного матрикса за счет влияния на TGF- $\beta$  [109].

В исследовании влияния miR-184 на процесс фиброзирования легочной ткани была продемонстрирована корреляция низкого уровня экспрессии miR-184 и высокого уровня онкосупрессорного белка p63. Факторы воспаления, такие как стимуляция TGF- $\beta$ 1, могут вызывать экспрессию p63 как одно из ранних молекулярных событий изменений эпителиальных клеток при ИЛФ. Авторы предположили, что белок p63 играет ключевую роль в патогенезе ИЛФ. В исследовании на мышцах с фиброзом легких, индуцированным блеомицином, было выявлено, что повышение экспрессии miR-184 уменьшало степень фиброзных изменений на моделях мышей. Таким образом, авторы исследования показали, что сверхэкспрессия miR-184 подавляет экспрессию p63, тем самым уменьшая степень фиброза, индуцированный TGF- $\beta$ 1 [100].

В проведенном исследовании Wang и соавторами была выявлена сверхэкспрессия miR-301a в модели мышей с блеомицин-индуцированным фиброзом, в ткани легких пациентов с ИЛФ и в нормальных и фиброзных фибробластах, стимулированных TGF $\beta$ . Авторы продемонстрировали, что генетическая делеция miR-301a снижает тяжесть фиброза легких после инъекции блеомицина в модели фиброзных мышей за счет снижения экспрессии виментина,  $\alpha$ -SMA и фибронектина. Кроме того, когда они блокировали miR-301a с помощью антагомира-301a, они наблюдали снижение пролиферации и активации легочных фибробластов, а также структурной деструкции легочной ткани в экспериментальной модели. Они показали, что негативная регуляция TSC1-мишени с помощью miR-301a способствует прогрессированию фиброза легких через сигнальный путь mTOR [108].

В середине 2016 года Ge и соавт. [109] продемонстрировали некоторые доказательства, указывающие на то, что экспрессия miR-323a-3p была снижена в эпителии легких с ИЛФ и в модели фиброза, индуцированного блеомицином. В этом же исследовании было продемонстрировано, что антагомиры для miR-323a-3p способствуют фиброзу легкого у мышей, и, напротив, при использовании миметика miR-323a-3p фиброз ингибируется. Таким образом, авторы заключили, что эта микроРНК ослабляет передачу сигналов, связанную с TGF $\alpha$  и TGF $\beta$ , а также

с экспрессией caspase-3, путем прямого нацеливания на гены TGF $\alpha$  и Smad2. miR-29 считается антифиброзной микроРНК [97, 117]. Таким образом, терапевтический эффект одноцепочечной РНК miR-29b соответствующего типа оценивали и сравнивали с эффектами миметика двухцепочечной miR-29. Как на модели фиброза у мышей, так и в экспериментах на клеточных культурах miR-29b показал меньший синтез коллагена, чем miR-29 миметик, что подтверждает его потенциальную роль в качестве эффективного терапевтического препарата при легочном фиброзе [115].

Другой важной микроРНК является miR-27a-3p, экспрессия которой снижена в фибробластах легких пациентов с ИЛФ по сравнению с фибробластами легких группы контроля. Когда экспрессия этой микроРНК была повышена, легочный фиброз, индуцированный в модели блеомицин-мышей, смягчался путем нацеливания на факторы транскрипции  $\alpha$ -SMA и Smad2/4. Эти результаты подтверждают роль miR-27a-3p как негативного регулятора легочного фиброза, поскольку она ингибирует дифференцировку миофибробластов [154]. Экспрессия miR-27b была снижена в ткани легких мышей, получавших блеомицин, по сравнению с контрольными мышами, и, в свою очередь, обработка фибробластов легких блеомицином снижала экспрессию этой микроРНК. Интересно, что его сверхэкспрессия с использованием лентивирусного вектора в фибробластах легких человека LL29, стимулированных TGF $\beta$ 1, ингибировала экспрессию мРНК белков коллагена 3a1 и  $\alpha$ SMA, идентифицируя TGF- $\beta$ RI и Smad2 как их прямые гены-мишени. Этот результат указывает на то, что miR-27b действует как антифибротическая miRNA в легочных фиброзных фибробластах [105].

Zhang и соавт. в своем исследовании определили, что miR-18a-5p ингибирует субплевральный фиброз легких путем нацеливания на TGF $\beta$ RII и, как следствие, ингибирует сигнальный путь TGF $\beta$ -Smad2/3 [101]. Результаты, представленные Huang и соавт. показали, что при введении лентивируса, экспрессирующего miR-18a-5p, мышам, получавшим блеомицин, легочный фиброз и субплевральный фиброз ослаблялись [86].

Анализ, проведенный Lung Tissue Research Consortium для оценки экспрессии miR-101 в тканях легких пациентов с ИЛФ, показал, что это одна из

микроРНК с наиболее подавленным уровнем экспрессии. Таким образом, была исследована регуляция этой микроРНК и ее клеточная передача сигналов. Когда miR-101 сверхэкспрессировалась в фиброзной клеточной линии (HLL29), TGF $\beta$ -индуцированная экспрессия белков  $\alpha$ -SMA, COL1A1 и COL3A1 ингибировалась. Напротив, при переносе анти-miR-101 в нормальное легкое клеточная линия фибробластов увеличивала экспрессию белков этих коллагенов и  $\alpha$ -SMA. Результаты показали, что miR-101 ингибирует дифференцировку фибробластов в миофибробласты, стимулированную TGF $\beta$ , через сигнальный путь SMAD2/3. Кроме того, было исследовано влияние сверхэкспрессии miR-101 посредством переноса генов на модели мышей с блеомицином. Полученные результаты показали улучшение функции легких со снижением уровней COL1A1 и COL3A1, а также уровней мРНК NFATc2, FZD6 и TGF $\beta$ RI. Таким образом, был сделан вывод, что miR-101 представляет собой антифиброзную микроРНК с потенциальными терапевтическими свойствами для лечения ИЛФ [86].

В 2009 г. сообщалось, что miR-155 индуцируется провоспалительными цитокинами, такими как IL-1 и TNF- $\alpha$ , в макрофагах и дендритных клетках [90, 91]. Впоследствии Pottier и соавт. продемонстрировали с помощью функциональных анализов *in vitro* фактор роста кератиноцитов (KGF) в качестве новой мишени для miR-155 в фибробластах легких. Более того, результаты, полученные на модели мышей, получавших блеомицин, показали, что уровни экспрессии miR-155 в фибробластах легких коррелируют со степенью фиброза легких и изображают ее как потенциального ключевого игрока при повреждении тканей. Напротив, в недавнем исследовании сообщалось, что miR-155 подавлялась в легочных фибробластах человека, стимулированных TGF $\beta$ . И когда эта микроРНК была сверхэкспрессирована для изучения ее регуляторной роли в этой клеточной модели, они наблюдали ослабление пролиферации, миграции и синтеза коллагена фибробластов. Кроме того, авторы наблюдали снижение экспрессии гена Smad1 после ингибирования miR-155 в этой клеточной модели [60, 89]

Ранее уже было подтверждено, что miR-200a, miR-200b и miR-200c подавляются у мышей с фиброзом легких, индуцированным блеомицином [118].

Однако на ранних стадиях острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС), индуцированного на мышинной модели липополисахаридами (ЛПС), также было показано, что экспрессия miR200b/c подавлялась, что было связано с увеличением их белков-мишеней ZEB1 и ZEB2. Аналогичным образом, при интратрахеальном введении лентивирусных векторов miR200b/c кДНК или ZEB1/sh РНК воспаление легких и фиброз уменьшались. Кроме того, наблюдалось увеличение уровней белка E-кадгерина и подавление экспрессии виментина и белка  $\alpha$ SMA. Эти эффекты были связаны с ингибированием сигнальных путей p38 MAPK и TGF $\beta$ /Smad3 [102]. Чтобы выяснить роль микроРНК, сначала исследовали их с помощью экспрессии микрочипов, а затем исследовали их функции в активированных фибробластах легких. Авторы обнаружили субкластер miR-19a-19b-20a со способностью подавлять активацию *in vitro* фибробластов, стимулированных TGF $\beta$ . Более того, когда этот субкластер микроРНК был интратрахеально перенесен в легкие, обработанные блеомицином, их результаты выявили не только снижение экспрессии профибротических генов, таких как ACTA2, COL1A1 или CTGF и Serpin, но также избыточную экспрессию антифибротических генов [82].

Другим примером является miR-133a, которая, несмотря на сверхэкспрессию в фибробластах легких человека, стимулированных TGF $\beta$ 1, проявляет антифибротические свойства. Чтобы исследовать, модулирует ли эта микроРНК, индуцированная TGF- $\beta$ , дифференцировку фибробластов в миофибробласты, миметик miR-133a трансфицировали в фибробласты легких человека. Дифференцировка фибробластов была ослаблена снижением экспрессии  $\alpha$ -SMA. Напротив, ингибитор miR-133a улучшал дифференцировку миофибробластов, индуцированную TGF- $\beta$ . Кроме того, анализ мишеней и репортерные анализы люциферазы показали, что TGF- $\beta$  RI, CTGF и COL1A1 являются прямыми мишенями miR-133a. Более того, при функциональном анализе на модели блеомицин-индуцированного фиброза у мышей было продемонстрировано, что избыточная экспрессия miR-133a улучшает фиброз легких за счет регулятора отрицательной обратной связи профиброгенных путей TGF- $\beta$  [116, 151].

В другом исследовании, где был проанализирован профиль экспрессии микроРНК в экзосомах, полученных из жидкости БАЛ пожилых пациентов с ИЛФ, было продемонстрировано подавление miR-30a. В функциональных анализах сверхэкспрессия miR-30a ослабляла экспрессию активируемой TGFβ киназы 1/MAP3K7, связывающего белок 3 (TAB3), α-SMA и фибронектина как в клетках 293T, так и в клетках A549, стимулированных TGFβ, по сравнению с контрольной культурой. В 2020 г. Wu и соавт. в своем исследовании определили, что miR-30a не только регулирует экспрессию α-SMA, но также регулирует экспрессию белка активации фибробластов альфа (FAP-α) и COL1A1 в фибробластах, стимулированных TGFβ1. Кроме того, их результаты показали, что miR-30a играет роль в пролиферации клеток с обработкой TGFβ1 или без нее посредством регуляции экспрессии FAP-α [43]. В зарубежной литературе имеются данные о снижении экспрессии miR-340-5p при различных заболеваниях, связанных с фиброзом. Однако ее роль в ИЛФ неизвестна. Ранее было описано, что ось miR-340-5p/активирующий транскрипционный фактор 1 (ATF1) регулирует пролиферацию и инвазию клеток рака легкого [94]. Целью этого исследования было выяснить, связана ли miR-340-5p с активацией TGFβ-стимулированных фибробластов. Результаты показали, что, как только miR-340-5p имитирует трансфекцию в нормальных TGFβ-стимулированных фибробластах, ATF1 субэкспрессируется, а пролиферация и активация этих фибробластов смягчаются. Кроме того, они наблюдали снижение экспрессии белка COL1A1 и фибронектина путем нацеливания на путь TGFβ/P38/ATF1 [110].

Хотя накопление устойчивых к апоптозу фибробластов является отличительной чертой ИЛФ, точные механизмы, посредством которых эти клетки приобретают эту характеристику, еще полностью не выяснены [146]. Например, в 2009 г. было продемонстрировано, что подавление miR-29 в опухолевых клетках увеличивает экспрессию антиапоптотического белка и устойчивость клеток к апоптозу [107]. На сегодняшний день вклад микроРНК в механизмы регуляции восприимчивости к апоптозу при ИЛФ до конца не изучен. В этом контексте то, как апоптоз вмешивается в ИЛФ, остается спорной темой. Сообщалось, что

семейство miR-29 является одной из микроРНК, экспрессия которых снижена при фиброзных заболеваниях. Это подавление было связано с увеличением экспрессии профибротических генов, связанных с чрезмерным отложением эпителиально-мезенхимального перехода [92, 106]. В исследовании, проведенном на фибробластах легких мышей с блеомицин-индуцированным фиброзом и на клеточной линии фибробластов легких плода человека, оценивали роль miR-29с как регулятора фибробластов легких. Для достижения этой цели использовали как ингибитор miR-29с, так и миметик miR-29с. Авторы обнаружили, что миметик miR-29с ингибирует репрессию Fas, индуцированную TGF- $\beta$ , восстанавливая чувствительность к апоптозу, что может стать эффективной стратегией лечения ИЛФ [83]. Год спустя, в 2017 году, Xie T. и соавт. [93] также проанализировали функцию подавления miR-29с, но в эпителиальных клетках легких. Авторы наблюдали снижение апоптотического ответа с более высокой жизнеспособностью и пролиферацией в линии эпителиальных клеток легкого мыши, обработанной блеомицином и трансфицированной миметиком miR-29с, по сравнению с контрольными клетками. Молекулярные исследования показали, что miR-29с подавляет апоптоз эпителиальных клеток легких путем нацеливания на Foxo3, фактор транскрипции, который активирует гибель клеток и подавляет антиапоптотические белки.

Другая микроРНК- miR-142-3p, представляет собой микроРНК, которая ранее была вовлечена в клеточный апоптоз и воспалительную реакцию при фиброзе кардиомиоцитов [88]. Однако его роль в апоптозе и воспалении при ИЛФ неизвестна. В связи с этим Guo F. и соавт. [87] изучали эффекты трансфекции миметика miR-142-3p или ингибитора miR-142-3p на клетки MLE-12, подвергшиеся воздействию блеомицина. После миметической трансфекции miR-142-3p наблюдалось улучшение жизнеспособности клеток и снижение уровней IL-1 и TNF- $\alpha$  за счет подавления ЦОГ-2 и сигнального пути P13K/AKT/mTOR. Функциональные эффекты ингибитора miR-142-3p были полностью противоположными. Ранее сообщалось, что miR-506 обладает способностью ингибировать ЭМП, нацеленную на Snai2, супрессор транскрипции E-кадгерина

[143]. Поэтому целью этого нового исследования было оценить, служит ли miR-506 регулятором профибротических факторов на ранней стадии фиброза легких; в исследовании использовалась модель мышей с фиброзом легких. Более того, авторы специально сосредоточились на генах-мишенях miR-506, участвующих в апоптотических и воспалительных реакциях. Сверхэкспрессия этой микроРНК на модели мышей приводила к ослаблению LPS-опосредованного легочного фиброза. Экспериментальные результаты показали, что miR-506 индуцирует апоптоз, непосредственно нацеливаясь на p65, важную единицу NF-κB, которая играет решающую роль в транскрипционных ответах, включая клеточное деление, выживание клеток, дифференцировку, иммунитет и воспаление [155]. Поэтому было высказано предположение, что miR-506 является ключевым регулятором прогрессирования легочного фиброза [48]. Другая микроРНК, считающаяся важной при фиброзе, это miR-448, которая была указана как супрессор опухоли при некоторых типах рака [111]. Однако эту микроРНК и ее мишень, ABCC3, проанализировали, чтобы определить их роль в клеточной пролиферации, апоптозе и синтезе коллагена в фибробластах легких мышшиной модели с ИЛФ. Полученные результаты показали, что активация miR-448 и ингибирование экспрессии ABCC3 ингибирует пролиферацию фибробластов и синтез коллагена, но способствует апоптозу фибробластов легких посредством инактивации сигнального пути JNK [95].

В 2019 г. коллектив авторов из КНР исследовали роль длинной некодирующей РНК PFAR и miR-15a в фиброгенезе легких, индуцированном TGF-β1, и обнаружили, что miR-15a необходима для профиброзного действия PFAR при фиброзе легких (данная РНК участвует в синтезе коллагена). Проведенное исследование показало, что подавление PFAR способствует экспрессии miR-15a, тогда как сверхэкспрессия PFAR приводит к снижению экспрессии miR-15a. Нокдаун PFAR ингибировал индуцированную TGF-β1 выработку коллагена как на уровне мРНК, так и на уровне белка в фибробластах легких, тогда как этот эффект смягчался ингибированием miR-15a [99].

Также в 2019 г. авторы из Медицинской школы Ниппона изучали влияние miR-22 на дифференцировку фибробластов легких на моделях мышей с фиброзом, индуцированным блеомицином. Автором исследования было продемонстрировано, что miR-22 подавляет индукцию TGF- $\beta$ 1, тем самым подавляя фиброзирование легочной ткани [41].

Таким образом, несмотря на активный поиск различных маркеров фиброзирования легочной ткани при ИЗЛ, проведенных в настоящее время исследований недостаточно для выработки надежных клинико-лабораторных критериев, которые позволят спрогнозировать развитие фиброза. Вклад микроРНК в эту проблему изучен недостаточно. В этой связи представляются актуальными исследования по поиску новых маркеров фиброзирования легких.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование включались пациенты с диагнозом гиперчувствительный пневмонит и саркоидоз ВГЛУ и легких находившиеся на лечении в ФГБНУ «ЦНИИТ» с 2019 по 2022 г. Диагноз был установлен на основании клинических рекомендаций РРО по диагностике и лечению гиперчувствительного пневмонита, клинических рекомендаций РРО по диагностике и лечению саркоидоза, а также международных рекомендаций ERS/ATS/JRS/ALAT по диагностике и лечению гиперчувствительного пневмонита-и Fleischner Society White Paper 2020 г. [24]

Набор пациентов проводился с учетом критериев включения/невключения.

### ***Критерии включения в исследование:***

1. Возраст пациентов от 18 до 75 лет.
2. Подтвержденный диагноз гиперчувствительного пневмонита, саркоидоза ВГЛУ и легких,
3. Подписанное информированное согласие на участие в исследовании.

### ***Критерии неключения (наличие хотя бы одного критерия делало невозможным участие пациента в исследовании):***

1. Наличие активного инфекционного заболевания (в том числе, микобактериальной инфекции).
2. Декомпенсация хронических заболеваний различных органов и систем (хроническая сердечная недостаточность, сахарный диабет, гипертоническая болезнь, системные заболевания соединительной ткани).
3. Наличие в анамнезе тяжелой новой коронавирусной инфекции, осложненной пневмонией.
4. Обострение ИЗЛ менее, чем за 4 недели, до включения в исследование.
5. Наличие опухолевого заболевания.
6. Невозможность выполнения процедур, запланированных в протоколе исследования.
7. Беременность или кормление грудью,
8. Отказ пациента от участия в исследовании.

В работе проводилось клиническое обследование пациентов и с участием выбранных пациентов проводилось иммунологическое исследование.

Клинический этап состоял из когортного поперечного проспективного исследования. Лабораторный этап проводился по дизайну «случай-контроль». Для этого из общей группы пациентов были отобраны по 15 человек, наиболее сопоставимых по возрасту, клинико-рентгенологической картине, лабораторным показателям, наличия/отсутствия терапии.

## 2.1 Клиническое исследование

Обследовано 230 пациентов с интерстициальными заболеваниями легких, находившихся на лечении в отделе дифференциальной диагностики туберкулеза и экстракорпоральных методов лечения ФГБНУ «ЦНИИТ» с 2019 по 2022 г. Из 230 пациентов были исключены пациенты, не подходящие под критерии включения-имевшие хронические заболевания в стадии декомпенсации, пациенты, перенесшие тяжелую новую коронавирусную инфекцию в анамнезе, с остаточными рентгенологическими изменениями. В результате анализа когорты пациентов, было отобрано 76 человек, подходящих под все критерии включения и сформировано две группы:

- группа 1 – пациенты с ИЗЛ, куда вошли пациенты с гиперчувствительным пневмонитом с фиброзом и без фиброза (n=44);
- группа 2 пациенты с саркоидозом, с наличием или отсутствием фибротических изменений (n=32).

Во время лабораторного этапа обследования в обеих группах проводилось сравнение микроРНК включенных пациентов с микроРНК группы здоровых лиц (20 здоровых сотрудников ФГБНУ «ЦНИИТ»).

Дизайн исследования представлен на рисунке 2.

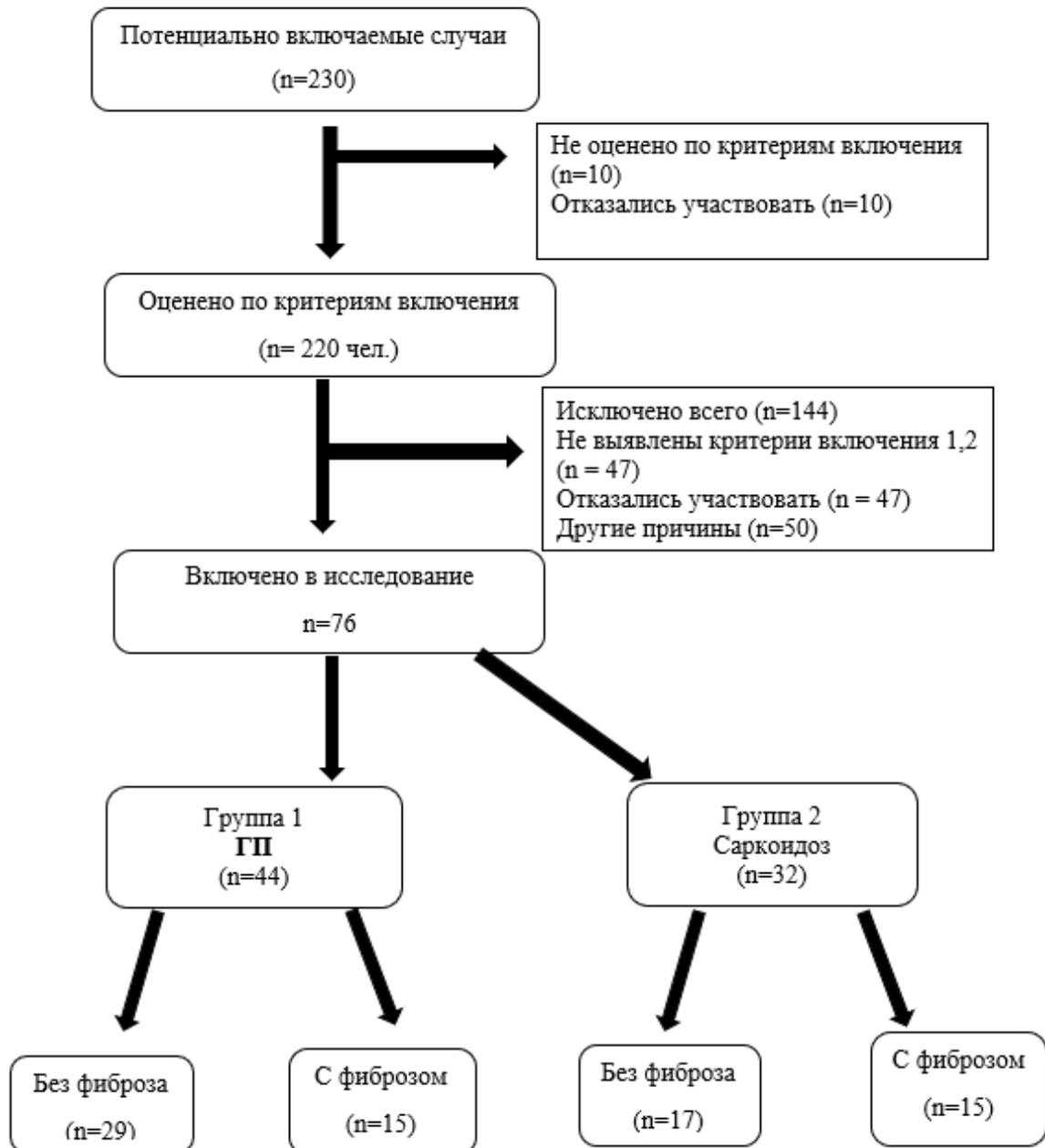


Рисунок 2 – Дизайн исследования

## 2.2 Характеристика пациентов

Среди обследованных 76 пациентов – женщин 45 (59,2%), мужчин 31 (40,7%). Длительность заболевания (от появления первых симптомов), в среднем, составила 58 месяцев (от 6 месяцев до 9,5 лет).

### 2.3 Физикальное исследование

У всех пациентов оценивались продолжительность заболевания, наличие или отсутствие респираторных симптомов, тест 6-минутной ходьбы, данные компьютерной томографии ОГК, клинического анализа крови, уровень С-реактивного белка, функция внешнего дыхания (спирометрия, исследование диффузионной способности легких).

Респираторный синдром включал в себя кашель и одышку и оценивался в баллах.

Одышка: за одышку принимали укорочение дыхания, субъективное затруднение или нарушение дыхания вынуждающего больного ограничивать свою физическую активность. Степень выраженности одышки оценивалась по шкале mMRC (таблица 1).

Таблица 1 – Шкала одышки mMRC (Modified Medical Research Council)

Степень	Тяжесть	Описание
0	Нет	Одышка не беспокоит, за исключением очень интенсивной нагрузки
1	Легкая	Одышка при быстрой ходьбе или при подъеме на небольшое возвышение
2	Средняя	Одышка заставляет больного идти более медленно по сравнению с другими людьми того же возраста, или появляется необходимость делать остановки при ходьбе в своем темпе по ровной поверхности
3	Тяжелая	Одышка заставляет больного делать остановки при ходьбе на расстояние около 100 м или через несколько минут ходьбы по ровной поверхности
4	Очень тяжелая	Одышка делает невозможным для больного выход за пределы своего дома, или одышка появляется при одевании и раздевании

Оценка выраженности кашля осуществлялась по 6-балльной шкале выраженности дневного и ночного кашля. Данная шкала валидирована в исследованиях пациентов с ИЗЛ (таблица 2).

Таблица 2 – Шкала оценки дневного и ночного кашля

Балл	Дневной кашель	Ночной кашель
0	Нет кашля	Нет кашля
1	Единичные кашлевые толчки	Кашель, не прерывающий сон
2	Редкий кашель в течение дня	Кашель, прерывающий сон не чаще 2 раз за ночь
3	Частый кашель, не влияющий на дневную активность	Кашель, приводящий к прерыванию сна больше 2 раз за ночь
4	Частый кашель, снижающий дневную активность	Частое прерывание сна из-за кашля
5	Тяжелый кашель, невозможность выполнять обычную активность	Кашель, не дающий возможности уснуть

Оценка толерантности физической нагрузки проводилась при помощи теста 6-минутной ходьбы (6-WMD). В начале и по завершению теста у пациента оценивалась одышка по модифицированной шкале Борга [41].

Шкала Борга – субъективный способ определения уровня нагрузки во время занятий лечебной физкультурой. Доктор Гуннар Борг, создатель шкалы, разбил ее от 6 до 20 баллов, как ориентир по сердечному ритму: при умножении балла Борга на 10, полученное значение приблизительно соответствует частоте сердечных сокращений для соответствующего уровня активности (таблица 3).

Таблица 3 – Шкала Борга

Балл	Описание одышки
0	состояние покоя
1	очень легко
2	легко
3	умеренная нагрузка

## Продолжение таблицы 3

4	трудновато
5	трудно
6	тяжело
7	умеренно тяжело
8	очень тяжело
9	крайне тяжело
10	максимальная нагрузка

#### 2.4 Рентгенологические методы исследования

Всем пациентам выполняли КТ ОГК в режиме высокого разрешения. Исследование проводили на мультисрезовом компьютерном томографе «Somatom Emotion-16» фирмы Siemens с использованием стандартного алгоритма. Осевой оптический центратор располагался на уровень яремной выемки – нулевого 57 опорного уровня, с которого производилось сканирование до уровня диафрагмы с захватом плевральных синусов. Исследование проводилось в положении больного лежа на спине, с заведенными руками за голову, с задержкой дыхания от 10 до 30 секунд, со скоростью движения стола 5 мм/сек. и коэффициентом смещения 1,5мм. Толщина каждого томографического среза составляла 0,6 мм. Полученные изображения анализировались в различных электронных «окнах» – стандартном легочном и медиастинальном «окне». Применение относительно узкого мягкотканого «окна» (ширина +350...+500HU, уровень +35...+45HU) позволяло оценить состояние грудной стенки, плевры и плевральной полости. Легочное «окно» (ширина +900...+1200HU, уровень – 850HU) использовалось для уточнения характера изменений в легочной ткани. Плевральное «окно» (ширина +1500...+2000, уровень – 600HU) использовалось для оптимальной визуализации легочной ткани с ее сосудами, бронхами, листками плевры и другими мягкоткаными структурами.

На сегодняшний день не существует достоверных шкал оценки выраженности распространенности легочного фиброза по данным КТ ОГК. Прогрессирование фиброза обычно оценивают визуально, полагаясь на процентную долю объема легких, содержащую признаки фиброза в верхней, средней и нижней зонах легких. Поперечные, коронарные и сагиттальные смежные срезы ВРКТ исходного и последующего КТ-исследований сравниваются бок о бок после поправки на изменения объема легких. Оценка КТ ОГК проводилась в соответствии с клиническими рекомендациями РРО [3] и обновленными клиническими рекомендациями ATS/ERS/JRS/ALAT по диагностике ИЗЛ с ПФФ [129]

Оценивалась легочная паренхима, а именно наличие симптома «матового стекла», мозаичной плотности легочной ткани, плохо очерченных центрилобулярных очагов, воздушных ловушек, расположенных диффузно, менее выражено в базальных отделах легких.

Типичная картина фибротического ГП включала характерные признаки ГП и признаки фиброза легочной ткани: ретикулярные изменения, нарушающие легочную архитектуру (нормальное расположение сосудов и видимых бронхов) и/или тракционные бронхоэктазы; +/- сотовое легкое; хаотичное распределение фиброзных изменений (без отчетливого преобладания) или преобладание в средней легочной зоне (на уровне корней), характерна большая воздушность нижних легочных зон.

Рентгенологическая картина саркоидоза оценивалась в соответствии с клиническими рекомендациями РРО по диагностике и лечению саркоидоза. Для саркоидоза характерно увеличение лимфатических узлов всех групп средостения и корней легких, что рентгенологически проявляется двусторонним расширением тени средостения и корней легких, полициклическостью их контуров. Лимфатические узлы имеют шаровидную или овоидную форму, однородную структуру, гладкие четкие контуры, без перифокальной инфильтрации и склероза. Нарушения бронхиальной проходимости в результате сдавления бронхов лимфатическими узлами не характерно для саркоидоза. При значительном

увеличении лимфоузлов, приводящих к внешней компрессии бронхов, в легких крайне редко могут появиться участки гиповентиляции и даже ателектаза. При длительном хроническом течении у трети пациентов в структуре лимфоузлов появляются кальцинаты, которые имеют вид множественных, двусторонних, монолитных, неправильной формы известковых включений, расположенных вдали от бронхов в центре лимфоузлов.

Характерным признаком саркоидоза являются диссеминированные мелкоочаговые изменения. Множественные мелкие очаги располагаются вдоль бронхосудистых пучков, междольковых щелей, костальной плевры, в междольковых перегородках, вызывая их неравномерное («четкообразное») утолщение. Такое распределение очагов в КТ изображении определяется как перилимфатическое. Изменения традиционно преобладают в средних отделах легких, часто в прикорневой области и сочетаются с утолщением стенок сегментарных бронхов. Одним из редких проявлений активного саркоидоза при ВРКТ может быть симптом «матового стекла» различной протяженности и локализации. Морфологическим субстратом симптома «матового стекла» является множество мельчайших очагов, неразличимых при ВРКТ как самостоятельные образования или, в более редких случаях, наблюдается истинное «матовое стекло» как проявление диффузного утолщения межальвеолярных перегородок вследствие альвеолита. Хроническое рецидивирующее течение саркоидоза характеризуется появлением полиморфных очаговых изменений, увеличения размеров очагов и их слияние в мелкие зоны консолидации. Вокруг верхнедольковых бронхов формируются более или менее крупные мягкотканые конгломераты, неотделимые от анатомических структур корня. Заключительная стадия внутригрудного саркоидоза характеризуется фиброзной трансформацией легочной ткани различной степени с формированием участков консолидации в прикорневых отделах, сотового легкого, тракционных бронхоэктазов и парасептальной эмфиземы в верхних долях легких

При оценке данных компьютерной томографии анализировалась частота встречаемости типичных признаков фиброзирования в легких в обеих группах.

## 2.5 Функциональные и лабораторные методы исследования

Всем пациентам проводились функциональные исследования легких в первые дни пребывания в стационаре, включающие: спирометрию, бодиплетизмографию, исследование диффузионной способности легких для монооксида углерода методом однократного вдоха с задержкой дыхания.

### Методы исследования функции легких

Всем пациентам было проведено функциональные исследования легких включающие: спирометрию, бодиплетизмографию и исследование диффузионной способности легких по монооксиду углерода (СО) методом однократного вдоха с задержкой дыхания и газового состава крови и насыщения крови кислородом.

Спирометрию выполняли с соблюдением клинических рекомендаций по проведению и интерпретации результатов спирометрии РРО/РАСФД/РНМОТ 2023 года [17]. При спирометрии определяли: жизненную емкость легких (ЖЕЛ), форсированную жизненную емкость легких (ФЖЕЛ), объем форсированного выдоха за 1-ю секунду (ОФВ<sub>1</sub>), отношение объема форсированного выдоха за 1-ю секунду к жизненной емкости легких (ОФВ<sub>1</sub>/ЖЕЛ), отношение объема форсированного выдоха за 1-ю секунду к форсированной жизненной емкости легких (ОФВ<sub>1</sub>/ФЖЕЛ). Основные спирометрические показатели оценивали в литрах и по их отношению к должным величинам (д.в.) в процентах, а ОФВ<sub>1</sub>/ЖЕЛ и ОФВ<sub>1</sub>/ФЖЕЛ – в процентах.

Для уточнения типа вентиляционных нарушений по данным спирометрии выполняли бодиплетизмографию с соблюдением рекомендаций по проведению и оценке результатов ATS/ERS 2005 г. [141].

Определяли следующие показатели статических объемов и емкостей легких: общую емкость легких (ОЕЛ), жизненную емкость легких (ЖЕЛ), емкость вдоха (Евд), резервный объем выдоха (РОВыд.), внутригрудной объем (ВГО), остаточный объем легких (ООЛ), отношение ВГО/ОЕЛ и ООЛ/ОЕЛ.

Показатели ОЕЛ, ЖЕЛ, Евд, РОВыд., ВГО, ООЛ оценивали в литрах, а отношение ВГО/ОЕЛ и ООЛ/ОЕЛ – в процентах, а также все показатели

бодиплетизмографии по их отношению к должной величина показателя в процентах.

Для исследования газообменной функции легких проводили диффузионный тест методом однократного вдоха смеси, содержащей монооксид углерода (СО) и гелий (He) в искусственном воздухе, с задержкой дыхания и исследование газов артериализованной капиллярной крови и насыщение крови кислородом. Кровь для определения брали из мочки уха, предварительно обработанной мазью «Финалгон».

Определяли следующие показатели: диффузионную способность легких (DL<sub>сос</sub>) с коррекцией по уровню гемоглобина, парциальное напряжение кислорода (PaO<sub>2</sub>), парциальное напряжение двуокиси углерода (PaCO<sub>2</sub>), насыщение крови кислородом (SaO<sub>2</sub>)

Проведение исследования диффузионной способности легких выполнено с соблюдением рекомендаций по ATS/ERS 2005 г. [141], а исследования газов крови и насыщения крови кислородом согласно Руководству оператора «MEDICA EasyBloodGas».

Величину DL<sub>сос</sub> оценивали по абсолютной величине показателя в mmol/min/kPa и по его отношению к должной величине показателя в процентах, газов крови PaO<sub>2</sub> и PaCO<sub>2</sub> в мм рт. ст., SaO<sub>2</sub> в процентах.

Абсолютные величины всех анализируемых показателей использовали для определения их нормальных значений. Нормой считали, если их величины находились в диапазоне нормальных значений абсолютных величины должной  $\pm 1,645$  SD.

Все показатели спирометрии, ЖЕЛ, Евд, РОВыд. бодиплетизмографии, DLCO оценивали как патологические при их снижении ниже НГН. Остальные показатели бодиплетизмографии оценивали как патологические при их снижении ниже НГН и увеличении более ВГН.

При оценке выраженности патологических отклонений использовали фиксированное значение в процентах от должной величины с учетом НГН и ВГН.

В качестве должных величин использовали данные Европейского общества угля и стали 1993 г.[142].

Для определения выраженности нарушений вентиляционной функции использовали степень отклонения ОФВ1 от должного значения, согласно клиническим рекомендациям по проведению и интерпретации результатов спирометрии РРО/РАСФД/РНМОТ 2023 года [17]. Границы значений – легкая степень НГН > ОФВ1 > 70% д.в., умеренная степень ОФВ1 – 60 – 69% д.в., среднетяжелая степень ОФВ1 – 50 – 59% д.в.

Изменения вентиляционной функции легких по данным спирометрии оценивали как обструктивные при ОФВ/ЖЕЛ ниже НГН и менее 70 % . как рестриктивные при ЖЕЛ, ФЖЕЛ или ОФВ1 ниже НГН абсолютной величины показателя и менее 80%% д.в. и ОФВ1 /ЖЕЛ 70% и более, как смешанные нарушения при сочетании изменений обструктивного и рестриктивного типов [17].

Для определения выраженности нарушений показателей статических объемов и емкостей легких использовали интерпретацию, предложенную В. В. Канаевым с соавт. [7], а выраженность изменения показателя DL<sub>сос</sub> – градации, рекомендуемые ATS/ERS 2005 г. [141].

Изменения вентиляционной функции легких по данным бодиплетизмографии оценивали как рестриктивный при снижении ОЕЛ, ЖЕЛ и/или Евд. менее НГН абсолютной величины показателя и менее 80% д.в., как смешанные нарушения при снижении этих же показателей в сочетании со снижением показателя спирометрии ОФВ1/ФЖЕЛ ниже НГН и менее 70%.

Границами нормальных значений PaO<sub>2</sub> считали- 80 мм рт.ст., у пациентов старше 50 лет для определения нижней границы нормы PaO<sub>2</sub> делали поправку на возраст по формуле К. Меллемгаард для артериализованной капиллярной крови; PaCO<sub>2</sub> – 35-45 мм рт.ст., SaO<sub>2</sub> – 95%.

Исследования вентиляционной и диффузионной функций выполняли на аппарате «Master Screen Body/Diffusion» фирмы «Jaeger» а subsidiary of «Viasys Healthcare» 2007г., газов крови – на автоматическом газоанализаторе «Easy Blood Gas» фирмы «Medica» (США).

Всем пациентам проводился клинический анализ крови, биохимический анализ крови с исследованием уровня С-реактивного белка (С-РБ) концентрация которого в норме считалась в пределах до 5 мг/л.

## 2.6 Иммунологическое исследование

Пациентам на момент поступления в клинику забирали кровь для выделения сыворотки и последующего исследования микроРНК и цитокинов (ФНО, ИФН $\gamma$ ). Второй этап исследования проводился по методу «случай-контроль». Для проведения второго этапа исследования в каждой подгруппе были отобраны наиболее сопоставимые по всем клиническим параметрам пациенты – 15 человек. Сравнение проводили между двумя подгруппами пациентов и с группой здоровых лиц. Группа здоровых лиц (группа контроля) – 20 здоровых сотрудников ФГБНУ «ЦНИИТ» в возрасте от 18 до 50 лет, без сопутствующей патологии и изменений в легких по данным КТ ОГК.

Кровь для выделения сыворотки забирали у всех пациентов, включенных в исследование. Кровь центрифугировали при 1500 g в течение 15 мин при 4°C. Полученные сыворотки крови хранили при -80°C до исследования для выделения тотальной РНК, либо для исследования концентрации цитокинов/хемокинов методом ELISA.

Выделение суммарной РНК сыворотки крови у пациентов с диагнозом ГП и саркоидоз и здоровых лиц проводили по следующему протоколу: к каждому образцу сыворотки крови перед выделением РНК добавляли miRNeasy Serum/Plasma Spike-in Control (миметик микроРНК *C. elegans* miR-39) (QI-AGEN GmbH, Hilden, Germany) для мониторинга очистки и амплификации микроРНК. Экстракцию суммарной РНК из образцов сыворотки крови проводили с использованием TRIzol LS (ThermoFisher Scientific (Invitrogen), Уолтем, Массачусетс, США) в соответствии с инструкциями производителя. Впоследствии полученные образцы РНК использовали для постановки аррея miScript miRNA PCR Arrays (QI-AGEN GmbH, Hilden, Germany) и ПЦР в реальном времени (qRT-PCR).

Определение профиля экспрессии зрелых сывороточных микроРНК проводили с использованием набора miScript miRNA PCR Arrays (QIAGEN GmbH, Хиден, Германия). Для постановки исследования препараты РНК были скомбинированы в 10 пулов – 2 пула больных ГП с фиброзом, 2 пула больных ГП без фиброза, 2 пула больных саркоидозом с фиброзом, 2 пула больных саркоидозом без фиброза и 2 пула здоровых доноров. Для комбинирования использовали равные объемы суммарной РНК. Каждый пул содержал по 6 образцов РНК.

Обратную транскрипцию проводили с помощью набора miScript II RT Kit (QIAGEN, Массачусетс, США) в соответствии с инструкциями производителя. Полученную кДНК использовали для постановки Array. Данные Array анализировали при помощи специального пакета программ GeneGlobe (QIAGEN, Массачусетс, США).

Полученные результаты анализировали ПЦР в реальном времени. кДНК получали с помощью набора TaqMan® Advanced miRNA cDNA Synthesis Kit (ThermoFisher Scientific (Applied Biosystems), Массачусетс, США). Синтезированные кДНК в дальнейшем использовали в качестве матриц в реакциях qRT-PCR. TaqMan miRNA Assays (ThermoFisher Scientific (Applied Biosystems), Массачусетс, США) использовали для анализа экспрессии miR-22, miR-193a, miR-107, miR-103a, miR-106b, miR-17, miR-150, miR-15a в соответствии с рекомендациями производителя. miR-186 была выбрана в качестве референсного показателя для анализа и нормирования полученных данных в соответствии с рекомендациями TaqMan® Advanced miRNA Assays User Guide (ThermoFisher Scientific (Applied Biosystems), Массачусетс, США).

На образцах крови, полученных от здоровых лиц, отработан метод выделения фракции miRNA для последующего анализа на содержание специфических miRNA. Выход и чистоту выделенной РНК (соотношение A260/280) определяли на спектрометре NanoDrop ND 100, а качество (целостность) выделенных молекул РНК подтверждали методом электрофореза в геле. Было проведено сравнение двух методов выделения тотальной РНК из сыворотки крови: метод экстрагирования TRIzol LS (Invitrogen) и метод с использованием набора NucleoSpinmiRNAPlasma

(Macheery-Nagel, ФРГ). Установлено, что при сравнимом выходе РНК (50-100 нг из 300 мкл) результаты, получаемые с помощью NucleoSpin, более стабильны. Кроме того, применение NucleoSpin позволяет обрабатывать препарат ДНКазой-1 для удаления нежелательных примесей в один шаг, включаемый в протокол выделения. Таким образом, в дальнейшей работе мы планируем остановиться на использовании NucleoSpin для серийного выделения РНК из сыворотки.

Для повышения чувствительности и точности метода определения концентрации выделенной из сыворотки РНК мы использовали флуоресцентный краситель QuantiFluor® RNA Dye (Promega, США) и анализатор PerkinElmer 1420 MultilabelCounter в соответствии с протоколом производителя.

Для исследования концентрации цитокинов/хемокинов в сыворотке крови больных ГП, больных саркоидозом и здоровых доноров использовали наборы фирмы R&D Systems, Inc. (Миниаполис, США). Для этого разводятся стоковый раствор покровных (Capture) антител до рабочей концентрации PBS и разносится в плейт по 100 мкг/лунка. Инкубация происходит в темноте в течение 24 часов. Затем, лунки трижды промываются Wash buffer и в каждую лунку добавляется по 200 мкл блока антигенов. Инкубация 1 час при комнатной температуре, затем лунки вновь трижды промываются Wash buffer.

Далее в каждую лунку вносится по 100 мкл стандарта и сыворотки в необходимых концентрациях, инкубация при температуре 4°C в течение ночи. После трехкратного промывания добавляются Detection ABS, разведенные в Reagent diluent и инкубируются 2 часа при комнатной температуре. После четырехкратного промывания в каждую лунку добавляется по 100 мкл рабочего разведения Стрептавидина, инкубация 20 минут при комнатной температуре в темноте. Проводится трехкратное промывание и в каждую лунку добавляется краситель, разведенный в объеме 1:1, инкубируется 20 минут при комнатной температуре в темноте. Для остановки ферментативной реакции в темноте добавляется 1M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Далее проводится измерение результатов, длина волны 450 нм.

## 2.7 Статистическая обработка результатов

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с использованием пакета программ Microsoft Excel, Prism GraphPad, NanoStat. Описательная статистика использовалась для оценки ранговой вариации путем вычисления среднего арифметического ( $M$ ), стандартного отклонения, ошибки среднего арифметического ( $m$ ) и медианы нормального распределения. Значимость различий анализировалась путем проверки нулевой гипотезы, которая при отсутствии различий была отвергнута при  $p < 0,05$ , использовался критерий Манна-Уитни. Для оценки корреляции использовался непараметрический критерий Спирмена, который позволял оценивать корреляции независимо от нормальности распределения полученных данных.

### ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Всего в исследование включено 76 пациентов с интерстициальными заболеваниями легких: 44 пациента с гиперчувствительным пневмонитом (ГП) и 32 пациента с саркоидозом ВГЛУ и легких, 45 женщин, 31 мужчина, в возрасте от 18 до 69 лет (средний возраст пациентов составил  $49,9 \pm 12,8$  лет). На момент включения в исследование пациенты наблюдались в клинике не менее 3 лет. Общая характеристика пациентов представлена в таблице 4.

Таблица 4 – Характеристика пациентов, включенных в исследование

	ГП n=44	Саркоидоз n=32	Все пациенты n=76
Пол мужской, n (%)	15 (34%)	17 (53,1%)	32 (42,1%)
Пол женский, n (%)	29 (65,9%)	15 (46,9%)	44 (57,9%)
Возраст, годы, $M \pm \sigma$	$55,5 \pm 10,8$	$42,8 \pm 12,4$	$49,9 \pm 12,8$
Длительность заболевания, годы, $M \pm \sigma$	$4,7 \pm 7,0$	$3,0 \pm 4,4$	$4,0 \pm 3,4$

Далее каждая группа будет рассмотрена отдельно.

#### 3.1 Характеристика группы пациентов с ГП

В группу пациентов с ИЗЛ ГП включено 15 (34%) мужчин и 29 (65,9%) женщин. Всем пациентам диагноз был установлен на основании клинико-рентгенологической картины, в соответствии с клиническими рекомендациями, у 16 (36,3%) пациентов диагноз был подтвержден при помощи трансбронхиальной биопсии легкого.

В 1 подгруппу пациентов, без рентгенологических признаков фиброза, включено 15 человек. В 2 подгруппу с признаками фиброза включено 29 человек.

Общая характеристика жалоб представлена в таблице 5.

Таблица 5 – Оценка жалоб

Жалобы	Подгруппа 1, n=15	Подгруппа 2, n=29	p
Кашель, n (%)	12 (80%)	18 (62%)	0,143
Одышка			
mMRC 1-2, n (%)	5 (33,3%)	4 (13,7%)	0,474
mMRC 3-4, n (%)	10 (66,6%)	25 (86,2%)	<b>0,036*</b>

В 1 подгруппе жалобы на кашель, чаще непродуктивный предъявляли 12 (80%) пациентов, в то время как во 2 подгруппе пациентов кашель отмечали 18 (62%). Жалобы на одышку 1-2 степени в 1 подгруппе предъявляли 5 (33,3%) пациентов, во 2 подгруппе жалобы на одышку 1-2 степени предъявляли 4 (13,7%) пациента. Одышка 3-4 степени отмечалась у 10 пациентов из 1 подгруппы. Во 2 подгруппе пациентов с ГП одышка 3-4 степени отмечалась у 25 пациентов.

Жалобы на слабость, повышение температуры тела предъявляли 5 (11,3%) пациентов среди двух подгрупп, что не позволило провести оценку статистической значимости.

При оценке аускультативной симптоматики у 20 (68,9%) из 29 пациентов во 2 подгруппе отмечалось наличие трескучих хрипов в базальных отделах легких, что чаще является патогномоничным признаком для пациентов с фибротическим вариантом заболевания.

Характеристика рентгенологической картины представлена в таблице 6.

Таблица 6 – Характеристика рентгенологических изменений в легких у пациентов с гиперчувствительным пневмонитом и отсутствием или наличием признаков ФФ (n=44)

Изменения в легких	Все пациенты, n=44	1 подгруппа (без фиброза), n=15	2 подгруппа (с фиброзом), n=29	p (группа 1 и 2)
Симптом «матового стекла», n(%)	15 (34%)	10 (66,6%)	5 (17,2%)	<b>0,01*</b>

## Продолжение таблицы 6

Тракционные bronхоэктазы, n(%)	24 (54,5%)	5 (33,3%)	19 (65,5%)	<b>0,043*</b>
Ретикулярные изменения, n(%)	23 (52,2%)	3 (20%)	20 (68,9%)	<b>0,001*</b>
«сотовое легкое», n(%)	20 (68,9%)	-	20 (68,9%)	-

Примечание: \* $p < 0,05$ .

Данные компьютерной томографии были переменными. У пациентов в 1 подгруппе чаще встречался симптом «матового стекла» – 66% случаев, тогда как во 2 подгруппе пациентов чаще регистрировались тракционные бронхоэктазы (65,5% случаев), ретикулярные изменения (68,9% случаев) и «сотовое легкое» (68,9% случаев), что является характерным для пациентов с наличием фибротических изменений в легких (таблица 7).

Таблица 7 – Частота выявления, тип и степень нарушений вентиляционной функции легких, по комплексной оценке, показателей спирометрии и бодиплетизмографии и газообменной функции легких больных ГП и отсутствием или наличием признаков ФФ (n=44)

Вентиляционная функция легких по данным спирометрии и бодиплетизмографии	Без фиброза (n=15)	С фиброзом (n=29)
	Частота изменения абс. кол-во (%)	Частота изменения абс. кол-во (%)
Нормальная	8 (53,3)	13 (44,8)
Нарушенная	7 (46,7)	16 (55,2)
Газообменная функция легких		
Нормальная	2 (13,3)	2 (6,9)
Нарушенная	13 (86,7)	27(93,1)
Степень нарушения		
Легкая (Более 60% и менее 80% д.в.)	5 (33,3)	5 (17,2)

Продолжение таблицы 7

Умеренная (40-60% д.в.)	4 (26,7)	8(27,6)
Тяжелая (менее 40% д.в.)	4 (26,7)	14 (48,3)

Примечание: \* $p < 0,05$ .

Комплексный анализ частоты и выраженности патологических отклонений показателей объемов и емкостей легких, бронхиального сопротивления, удельной бронхиальной проводимости, спирометрии выявил нарушения функции внешнего дыхания. При исследовании вентиляционной функции легких по данным спирометрии в группе пациентов с фиброзом чаще доминировали рестриктивные нарушения функции легких – 15 (51,7%) из 29 пациентов. В 10,3% случаев в этой группе наблюдались рестриктивные изменения умеренной степени выраженности. В подгруппе пациентов без фиброза превалировала нормальная вентиляционная функция легких. По данным спирометрии в обеих группах встречались нарушения газообмена- у 30 человек (68,1%) из 44. Однако, при проведении статистического анализа по  $\chi^2$  достоверных различий среди двух подгрупп не отмечено (таблица 8).

Таблица 8 – Частота выявления и средняя величина патологических изменений показателей вентиляционной и газообменной функции легких больных ГП и отсутствием или наличием признаков ФФ

Показатели, направленность изменений, %/д.в.	Без фиброза n=15	С фиброзом n=29
	Частота изменений абс. (%) M±σ 1	Частота изменений абс. (%) M±σ 2
ОЕЛ↓	6 (40,0) 68,4±6,0	<b>13 (44,8)</b> 63,9±4,6
ЖЕЛ ↓	6 (40,0) 67,0±4,6	<b>14 (48,3)*</b> 62,0±7,5
Е вд. ↓	5(33,3) 61,5±6,9	<b>14 (48,3)*</b> 57,9±9,7

## Продолжение таблицы 8

ВГО ↓	4 (26,7) 67,0±3,1	<b>11 (37,9)*</b> 67,3±2,7
ВГО ↑	1(6,7) 148,9±0,0	1 (3,4) 140,0±0,0
ООЛ ↓	2 (13,3) 58,4±12,0	10(34,5) 62,0±8,5
ООЛ↑	1 (6,7) 155,4±0,0	1(3,4) 155,0±0,0
ФЖЕЛ ↓	6 (40,0) 63,5±6,9	14 (48,3) 59,7±9,8
ОФВ <sub>1</sub> ↓	6 (40,0) 62,2±8,4	14 (48,3) 58,3±9,9
ОФВ <sub>1</sub> /ЖЕЛ ↓	3 (20,0) 59,8±5,3	1 (3,4) 55,3±0,00
DLCO <sub>c</sub> ↓	<b>13(86,7)</b> <b>66,7±4,1</b>	<b>27 (93,1)</b> <b>31,±2,9</b>
PaO <sub>2</sub> мм.рт.ст. ↓	6 (40,0) 71,0±4,5	17 (58,6) 67,9±6,4
PaCO <sub>2</sub> мм.рт.ст. ↓	1 (6,7) 33,0±0,0	5 (17,2) 32,8±1,1
SaO <sub>2</sub> ↓	<b>1 (6,7)</b> 92,9±0,0	<b>17 (58,6)*</b> 92,7±1,7

Всем пациентам был проведен тест 6-минутной ходьбы с оценкой выраженности одышки по шкале Борга. Результаты исследования приведены в таблице 9.

Таблица 9 – Оценка результатов Т6МХ

	Подгруппа 1, n=15	Подгруппа 2, n=29	p
SpO <sub>2</sub> до Т6МХ, %	96,8±1,2	94,7±2,3	<b>0,01*</b>
Пульс до Т6МХ	78,6±3,4	79,5±5,3	0,9
Выраженность одышки по шкале Борга до Т6МХ, балл	0,9±1,2	1,7±2,2	<b>0,01*</b>

Продолжение таблицы 9

Дистанция, м	347±74,4	310,5±53,1	0,202
SpO <sub>2</sub> после Т6МХ, %	92±4,5	89,5±3,4	0,4
Пульс после Т6МХ	98,3±0,5	101,5±1,3	0,5
Выраженность одышки по шкале Борга после Т6МХ, балл	2,2±1,2	3,6±1,1	0

Примечание: \*p<0,05.

При оценке результатов теста 6-минутной ходьбы до проведения теста пациенты из 2 группы до начала теста отмечали более выраженную одышку по шкале Борга, по сравнению с пациентами из 1 подгруппы, также в этой же подгруппе отмечалась более низкая сатурация. При этом, после проведения теста, статистически значимых различий не получено.

Всем пациентам был выполнен клинический анализ крови, исследование С-реактивного белка, однако, при оценки данных, показатели оставались в пределах вариантов нормы, что не позволило провести статистический анализ.

### 3.2 Характеристика группы пациентов с саркоидозом

В группу пациентов с саркоидозом включено 17 (39%) мужчин и 15 (60,9%) женщин. Всем пациентам диагноз был установлен на основании клинико-рентгенологической картины, в соответствии с клиническими рекомендациями, у 7 (17%) пациентов диагноз был подтвержден при помощи трансбронхиальной биопсии легкого.

В 1 подгруппу пациентов, без рентгенологических признаков фиброза, включено 17 человек. В 2 подгруппу с признаками фиброза включено 15 человек.

При сборе жалоб 26 пациентов из 32 предъявляли жалобы на кашель, 18 пациентов предъявляли жалобы на одышку при физической нагрузке 0-1 степени, у 15 пациентов- 2-3 степени по шкале mMRC.

Общая характеристика жалоб представлена в таблице 10.

Таблица 10 – Оценка жалоб

Жалобы	Подгруппа 1 (n=17)	Подгруппа 2 (n=15)	p
Кашель, n(%)	9 (52,9%)	12 (80%)	0,07
Одышка			
mMRC 1-2, n(%)	13 (76,4%)	6 (40%)	0,07
mMRC 3-4, n(%)	4 (23,5%)	12 (60%)	<b>0,02*</b>

Примечание: \* p<0,05.

На момент включения в исследования данные компьютерной томографии были доступны у 32 пациентов. При этом данные компьютерной томографии были переменными. У 35 (85,3%) из 32 пациентов отмечалось наличие перилимфатической диссеминации. У 17 из 32 пациентов отмечалось наличие внутригрудной лимфаденопатии.

Характеристика рентгенологической картины представлена в таблице 11.

Таблица 11 – Характеристика изменений в легких у пациентов с саркоидозом у пациентов и отсутствием или наличием признаков ФФ (n=32)

Изменения в легких	Все пациенты, n=32	1 подгруппа (без фиброза), n=17	2 подгруппа (с фиброзом), n=15	p (п/гр. 1 и 2)
Перилимфатическая диссеминация, n (%)	20 (85,3%)	13 (76,4%)	7 (46,6%)	0,6
Внутригрудная лимфаденопатия, n (%)	20 (62,5%)	15 (88,2%)	5 (33,3%)	0,3
Тракционные бронхоэктазы, n(%)	16 (50%)	3 (17,6%)	13 (86,7%)	0,05
Ретикулярные изменения, n(%)	16 (50%)	3 (17,6%)	13 (86,7%)	
«сотовое легкое», n (%)	13 (40,6%)	-	13 (86,7%)	-
Уменьшение объема легких, n (%)	12 (80%)	-	12 (80%)	-
Утолщение междольковых перегородок, n(%)	12 (80%)	-	12 (80%)	-

Комплексный анализ частоты выявления, типа и степени нарушений вентиляционной функции легких показателей объемов и емкостей легких, бронхиального сопротивления, удельной бронхиальной проводимости, спирометрии и диффузионной способности легких, так же выявил нарушения функции внешнего дыхания. У преобладающего числа пациентов 15 из 32 выявлены нарушения газообменной функции легких. В подгруппе пациентов с фиброзом чаще встречались умеренные нарушения газообменной функции – у 7 пациентов из 15 (46,6%) (таблица 12).

Таблица 12 – Частота выявления, тип и степень нарушений вентиляционной функции легких, по комплексной оценке, показателей спирометрии и бодиплетизмографии и газообменной функции легких у больных саркоидозом и отсутствием или наличием признаков ФФ на КТ ОГК (n=32)

Вентиляционная функция легких по данным спирометрии и бодиплетизмографии	Без фиброза (n=17)	С фиброзом (n=15)
	Частота изменения абс. кол-во (%)	Частота изменения абс. кол-во (%)
Нормальная	14 (82,3)	4 (26,6)
Нарушенная	3 (17,6)	11 (73,3)
Газообменная функция легких		
Нормальная	<b>12 (70,5)*</b>	<b>5 (33,3)*</b>
Нарушенная	<b>5 (29,4)*</b>	<b>10 (66,6)*</b>
Степень нарушения		
Легкая (Более 60% и менее 80% д.в.)	<b>4 (23,5)*</b>	<b>1 (6,6)*</b>
Умеренная (40-60% д.в.)	<b>1 (5,8)*</b>	<b>7 (46,6)*</b>
Тяжелая (менее 40% д.в.)	-	<b>2 (13,3)*</b>

Примечание: \*p<0,05

Был проведен комплексный анализ частоты выявления и патологических изменений вентиляционной и газообменной функции легких в обеих группах пациентов- с гиперчувствительным пневмонитом и саркоидозом. Данные представлены в таблице 13.

Таблица 13 – Частота выявления и средняя величина патологического изменения показателей вентиляционной и газообменной функции легких у больных ГП и саркоидозом и отсутствием или наличием признаков ФФ на КТ ОГК (n=76)

Показатели, единицы измерения, направленность изменений	Больные ГП n=44		Больные саркоидозом ВГЛУ и Л n=32	
	Без фиброза n=15	С фиброзом n=29	Без фиброза n=17	С фиброзом n=15
	Частота изменений абс. (%) M±σ 1	Частота изменений абс. (%) M±σ 2	Частота изменений абс. (%) M±σ 3	Частота изменений абс. (%) M±σ 4
ОЕЛ, % д.в. ↓	6 (40,0) 68,4±6,0	<b>13 (44,8)</b> 63,9±4,6	-	<b>4 (15,4)</b> 75,0±5,0
ЖЕЛ, % д.в. ↓	6 (40,0) 67,0±4,6	<b>14 (48,3)</b> 62,0±7,5	1 (6,7) 62,6±0,0	<b>5 (19,2)</b> 71,9±4,7
Е вд., % д.в. ↓	5(33,3) 61,5±6,9	<b>14 (48,3)</b> 57,9±9,7	1 (6,6) 48,3±0,0	<b>4 (15,4)</b> 63,4±8,6
ВГО.% д.в. ↓	4 (26,7) 67,0±3,1	<b>11 (37,9)</b> 67,3±2,7	-	<b>3 (11,5)</b> 73,3±2,1
ВГО.% д.в. ↑	1(6,7) 148,9±0,0	1 (3,4) 140,0±0,0	1 (6,7) 150,5±0,0	2 (7,6) 146,1 ±5,0
ООЛ.% д.в. ↓	2 (13,3) 58,4±12,0	10(34,5) 62,0±8,5	-	-
ООЛ, % д.в. ↑	1 (6,7) 155,4±0,0	1(3,4) 155,0±0,0	1 (6,7) 141,9±0,0	3 (11,5) 149,7±5,7
ФЖЕЛ, %д.в. ↓	6 (40,0) 63,5±6,9	14 (48,3) 59,7±9,8	1 (6,6) 61,6±0,0	6 (23,0) 72,9 ±5,9
DLCO <sub>c</sub> , % ↓	<b>13(86,7)</b> <b>66,7±4,1*</b>	<b>27 (93,1)</b> <b>31,±2,9*</b>	6 (40,0) 64,0±8,1	21 (89,8) 58,9±13,6
PaO <sub>2</sub> мм.рт.ст. ↓	6 (40,0) 71,0±4,5	17 (58,6) 67,9±6,4	<b>2 (13,3)</b> 73,5±4,5	<b>11 (42,3)</b> 71,1±4,2
PaCO <sub>2</sub> мм.рт.ст. ↓	1 (6,7) 33,0±0,0	5 (17,2) 32,8±1,1	1 (6,7) 32,5±0,0	3 (11,5) 33,4±0,43
SaO <sub>2</sub> % ↓	<b>1 (6,7)</b> 92,9±0,0	<b>17 (58,6)</b> 92,7±1,7	-	<b>7 (26,9)</b> 93,6±0,96

Примечание: \* столбцы (1-2)  $\chi^2=6,64$ ;  $p<0,01$  (2-4)  $\chi^2=5,11$ ;  $p<0,025$ .

Как следует из таблицы, у пациентов с признаками фиброза чаще определялись рестриктивные изменения функции легких, которые проявлялись снижением ОЕЛ, ЖЕЛ, ВГО, ФЖЕЛ, ОФВ<sub>1</sub>. Изменения вентиляционной функции были менее выраженными, чем изменения газообменной функции. Показатели вентиляционной функции легких были на границе умеренных изменений и составляли в среднем для ОЕЛ  $63,9 \pm 4,6$  д.в., ЖЕЛ  $62,0 \pm 7,5$  д.в., ВГО  $140,0 \pm 0,0$  д.в., ФЖЕЛ  $59,7 \pm 9,8$  д.в., ОФВ<sub>1</sub>  $58,3 \pm 9,9$  д.в. у пациентов с ГП и ОЕЛ  $75,0 \pm 5,0$  д.в., ЖЕЛ  $71,9 \pm 4,7$  д.в., ВГО  $73,3 \pm 2$ , д.в., ФЖЕЛ  $72,9 \pm 5,9$  д.в., ОФВ<sub>1</sub>  $67,4 \pm 7,0$  д.в.

Всем пациентам также проводился клинический анализ крови, исследование С-реактивного белка. При оценке данных не было выявлено значимых изменений, что не позволило провести статистический анализ.

## ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ЛАБОРАТОРНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

### 4.1 МикроРНК как маркеры прогрессирования ГП

Анализ экспрессии методом miRNA PCR Array выявил различия в экспрессии содержания микроРНК в сыворотке крови больных ГП по сравнению с контролем. В таблице 14 приведены результаты PCR Array для микроРНК с максимальной дифференциацией экспрессии между сывороткой крови больных ГП и сывороткой крови здоровых лиц. В соответствии с полученными результатами нами был выделен набор микроРНК, которые могут являться предикторами развития фиброза у пациентов с гиперчувствительным пневмонитом.

Таблица 14 – Изменение экспрессии зрелых микроРНК сыворотки крови больных с диагнозом ГП по сравнению с группой здоровых лиц (данные PCR Array)

Зрелые miRS	Изменение экспрессии, UE	p
hsa-miR-106b-5p	1,4969	0,2
hsa-miR-126-3p	1,2588	0,07
hsa-miR-133b	-5,0443	<b>0,008</b>
hsa-miR-146a-5p	1,0107	0,9
hsa-miR-150-5p	-13,9739	<b>0,00009</b>
hsa-miR-17-5p	3,8602	<b>0,0008</b>
hsa-miR-18a-5p	4,5588	<b>0,0007</b>
hsa-miR-196a-5p	-8,1004	<b>0,02</b>
hsa-miR-19a-3p	1,7435	<b>0,03</b>
hsa-miR-19b-3p	1,1397	0,3
hsa-miR-200c-3p	-1,7711	<b>0,002</b>
hsa-miR-20a-5p	3,1354	<b>0,001</b>
hsa-miR-21-5p	1,9168	<b>0,005</b>
hsa-miR-221-3p	1,0391	0,7
hsa-miR-222-3p	-1,8982	<b>0,004</b>
hsa-miR-27a-3p	-1,567	<b>0,004</b>
hsa-miR-296-5p	-1,8376	<b>0,0005</b>
hsa-miR-375	-14,5337	<b>0,01</b>
hsa-miR-423-5p	-4,5044	<b>0,001</b>

## Продолжение таблицы 14

hsa-miR-574-3p	-4,2911	<b>0,0001</b>
hsa-miR-885-5p	-10,1354	<b>0,0003</b>
hsa-miR-93-5p	-1,3454	<b>0,04</b>
hsa-miR-107	11,1732	<b>0,0003</b>
hsa-miR-10a-5p	-4,7502	<b>0,004</b>
hsa-miR-130b-3p	-2,9309	<b>0,0009</b>
hsa-miR-15a-5p	3,261	<b>0,001</b>
hsa-miR-193a-5p	-14,1037	<b>0,0005</b>
hsa-miR-211-5p	-5,8347	<b>0,008</b>
hsa-miR-26b-5p	1,6118	<b>0,02</b>
hsa-miR-374a-5p	1,6919	0,4
hsa-miR-103a-3p	3,231	<b>0,001</b>
hsa-miR-24-3p	-1,7467	<b>0,01</b>
hsa-miR-26a-5p	1,4661	<b>0,03</b>

На основании выявленных различий были выделены микроРНК с максимальными различиями в профиле экспрессии, которые были в дальнейшем были проанализированы методом ПЦР в реальном времени- miR-22, miR-150, miR-106b, miR-17-5p, miR-103.

На рисунках 3–5 представлены различия в экспрессии микроРНК как по сравнению с группой здоровых лиц, так и по сравнению двух групп пациентов- с фиброзом и без фибротических изменений. Верификация данных методом ПЦР в реальном времени показала, что для пациентов с фибротическим фенотипом ГП была достоверно повышена экспрессия miR-375 (ассоциирован с усилением воспаления за счет увеличения экспрессии TLR4 [149]) и miR-193a (контролирует аутофагию, регулируя пути про-аутофагии инактивирует сигнальный путь АКТ/mTOR, АМПК/mTORC1 является центром регуляции аутофагии, участвует в прогрессировании воспаления за счет регуляции пролиферации и апоптоза [57] по сравнению с пациентами с нефибротическим ГП.

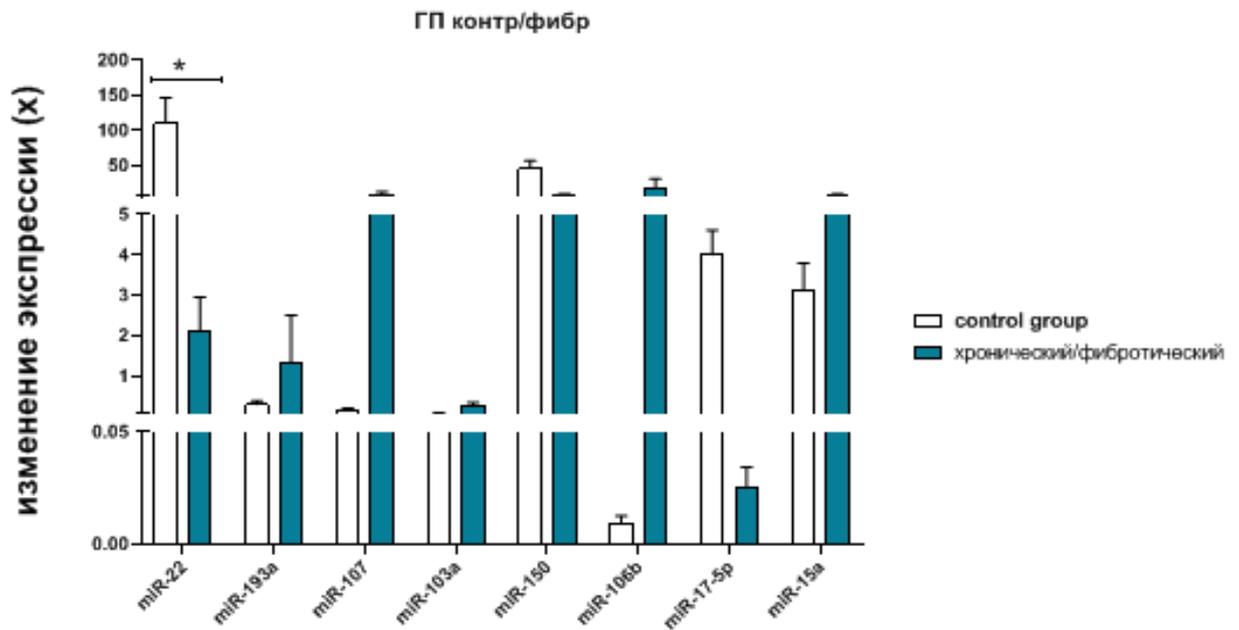


Рисунок 3 – Различия в профилях экспрессии микроРНК между фибротическим вариантом ГП и группой контроля

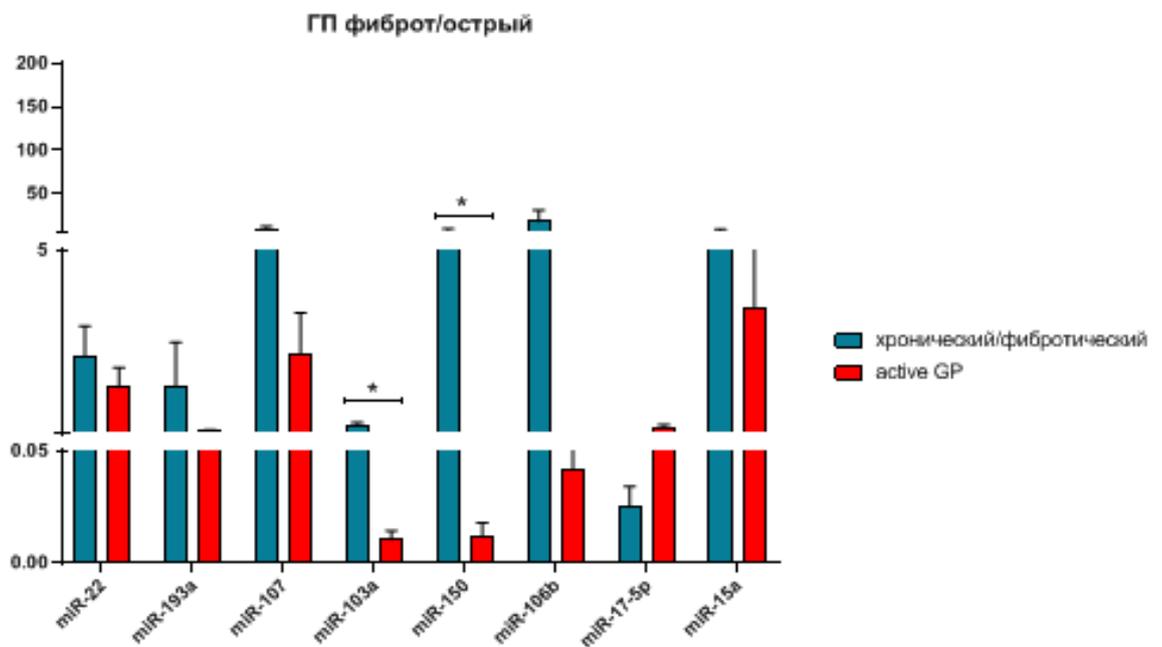


Рисунок 4 – Различия в профилях экспрессии микроРНК между ГП без фиброза и фибротическим фенотипом

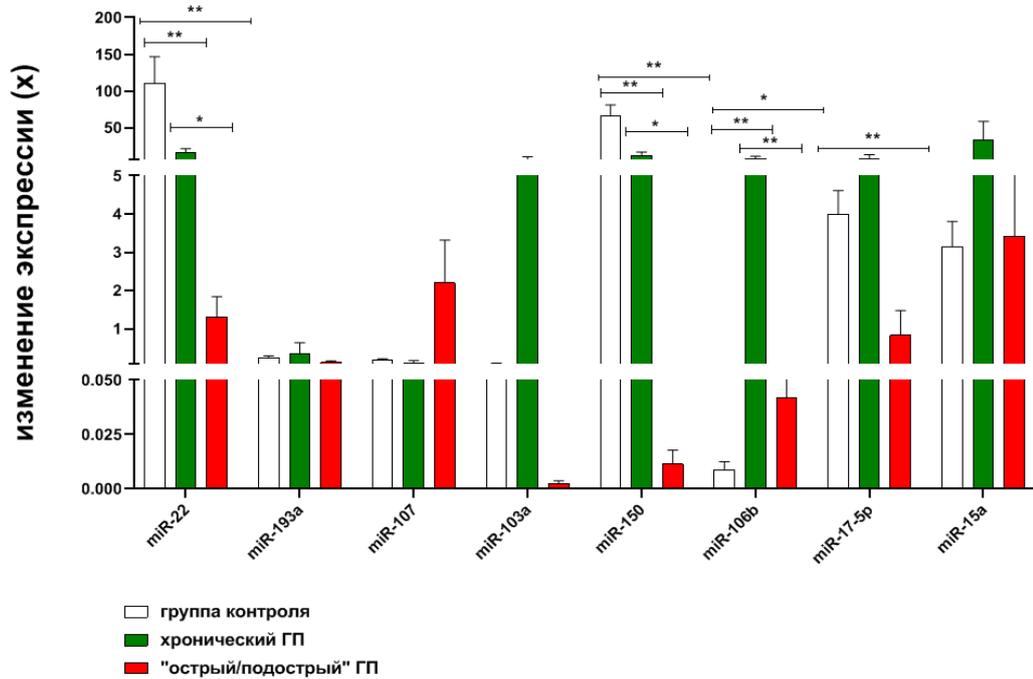


Рисунок 5 – Экспрессия генов, кодирующих зрелые микроРНК, в сыворотке крови больных с диагнозом ГП (с фиброзом и без) и группы здоровых лиц.

В то время как в сыворотке пациентов с нефибротическим ГП по сравнению с пациентами с фибротическим ГП была достоверно повышена экспрессия таких микроРНК как miR-106b (участвует в регуляции апоптоза [153], ингибирует фиброз через сигнальный путь miR-106b-5p/E2F1/SIX1 в клетках BEAS-2B, индуцированных TGF- $\beta$ 1 [153]), miR-18a (ограничивает дифференцировку T-клеток Th17 [98], ослабляет индуцированный TGF- $\beta$ 1 фиброз, воздействуя на фактор роста соединительной ткани [24]) и miR-15a (участвует в супрессии воспаления и фиброза [81]).

В первую очередь обращает на себя внимание тенденция к снижению содержания микроРНК в сыворотке крови больных ГП без фиброза как по сравнению с контролем, так и с группой больных с фибротическим вариантом ГП, что может служить отражением воспалительных реакций, сопровождающих заболевание. Ослабление регулирующего влияния микроРНК сопутствует активизации продукции провоспалительных факторов.

Анализ данных методом ПЦР в реальном времени показал, что у пациентов с фибротическим вариантом ГП была достоверно повышена экспрессия miR-106b (профибротическая), miR-150 (профибротическая) и miR-22 (профибротическая) по сравнению с пациентами с ГП без фиброза. У пациентов с диагнозом ГП без фиброза в сравнении группой контроля отмечено снижение экспрессии miR-22, miR-150, miR-17 и увеличение экспрессии miR-106b. У пациентов с фибротическим ГП в сравнении с контролем выявлено снижение экспрессии miR-22, miR-150 и увеличение экспрессии miR-106b (таблицы 15–17).

Таблица 15 – Результаты анализа данных уровня экспрессии между подгруппой пациентов без фиброза и группой здоровых лиц.

микроРНК	ГП без фиброза, УЕ	Группа здоровых лиц, УЕ	p
miR-106b	0,04	0,005	0,05
miR-22	1,3	110,8	<b>0,02</b>
miR-150	0,01	45,2	<b>0,01</b>
miR-17	0,83	4,002	<b>0,03</b>

Таблица 16 – Анализ данных уровня экспрессии микроРНК между группой пациентов с фиброзом и группой здоровых лиц.

микроРНК	ГП с фиброзом, УЕ	Группа здоровых лиц, УЕ	p
miR-106b	14,2	0,005	<b>0,02*</b>
miR-22	8,9	110,8	<b>0,02*</b>
miR-150	222,2	45,2	<b>0,04*</b>

Примечание: \*p<0,05.

Для значимых микроРНК был проведен корреляционный анализ между показателем диффузионной способности легких и уровнем экспрессии микроРНК.

Таблица 17 – Коэффициент корреляции между уровнем экспрессии микроРНК и DLCO у пациентов с ГП

	ГП без фиброза	ГП с фиброзом
miR-22	0,43	-0,15
miR-107	0,2	<b>0,003*</b>
miR-150	-0,35	<b>0,04*</b>
miR-106b	0,11	<b>-0,04*</b>
miR-17	0,5	<b>-0,03*</b>
miR-15a	0,1	<b>0,25*</b>

Примечание: \*  $p < 0,05$ .

При оценке корреляции, отмечена достоверная положительная корреляционная связь между miR-106b ( $p < 0,05$ ) (является профибротической) и показателем DLCO – чем больше экспрессия микроРНК, тем ниже уровень DLCO. Так же, была выявлена положительная корреляционная связь между miR-15a (является антифибротической) ( $p < 0,05$ ) и показателем DLCO легких у пациентов с фибротическим вариантом ГП – чем больше уровень экспрессии микроРНК, тем выше уровень DLCO

При исследовании уровня цитокинов в сыворотке крови пациентов обеих подгрупп выявлено повышение уровня ФНО у пациентов без фибротических изменений в легких в то время, как уровень ИФН $\gamma$  был повышен у пациентов с фиброзом. При проведении сравнительного анализа, данные различия не были статистически значимыми ( $p > 0,05$ ).

#### 4.2 Исследование уровня цитокинов (ФНО, ИФН $\gamma$ ) у пациентов с ГП

На рисунках 6–7 отображена продукция цитокинов в сыворотке крови больных с ГП. При исследовании уровня цитокинов в сыворотке крови пациентов обеих групп, выявлено повышение уровня ФНО у пациентов без фибротических изменений в легких в то время, как уровень ИФН $\gamma$  был повышен у пациентов с

фиброзом. При проведении сравнительного анализа, данные различия не были статистически значимыми ( $p > 0,05$ ).

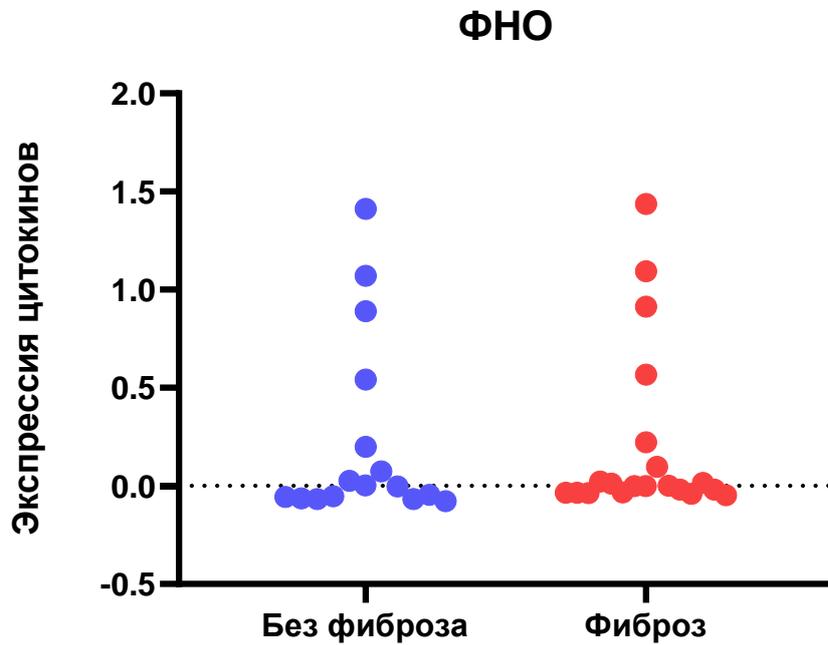


Рисунок 6 – Продукция ФНО в сыворотке крови больных ГП

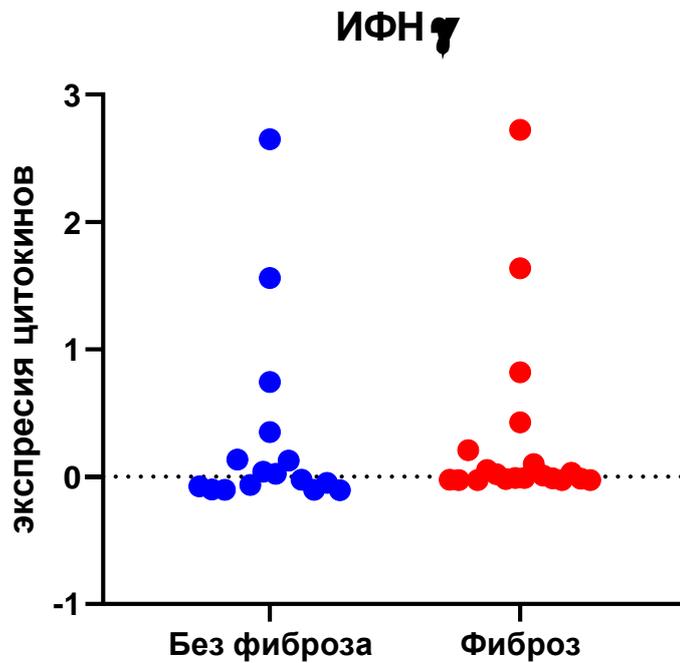


Рисунок 7 – Продукция ИФН $\gamma$  в сыворотке крови больных ГП

### 4.3 МикроРНК-маркеры прогрессирования саркоидоза

На рисунках 8–10 представлены различия в экспрессии микроРНК у пациентов с саркоидозом без фиброза и больных с фибротическим фенотипом саркоидоза, а также по сравнению с группой здоровых лиц.

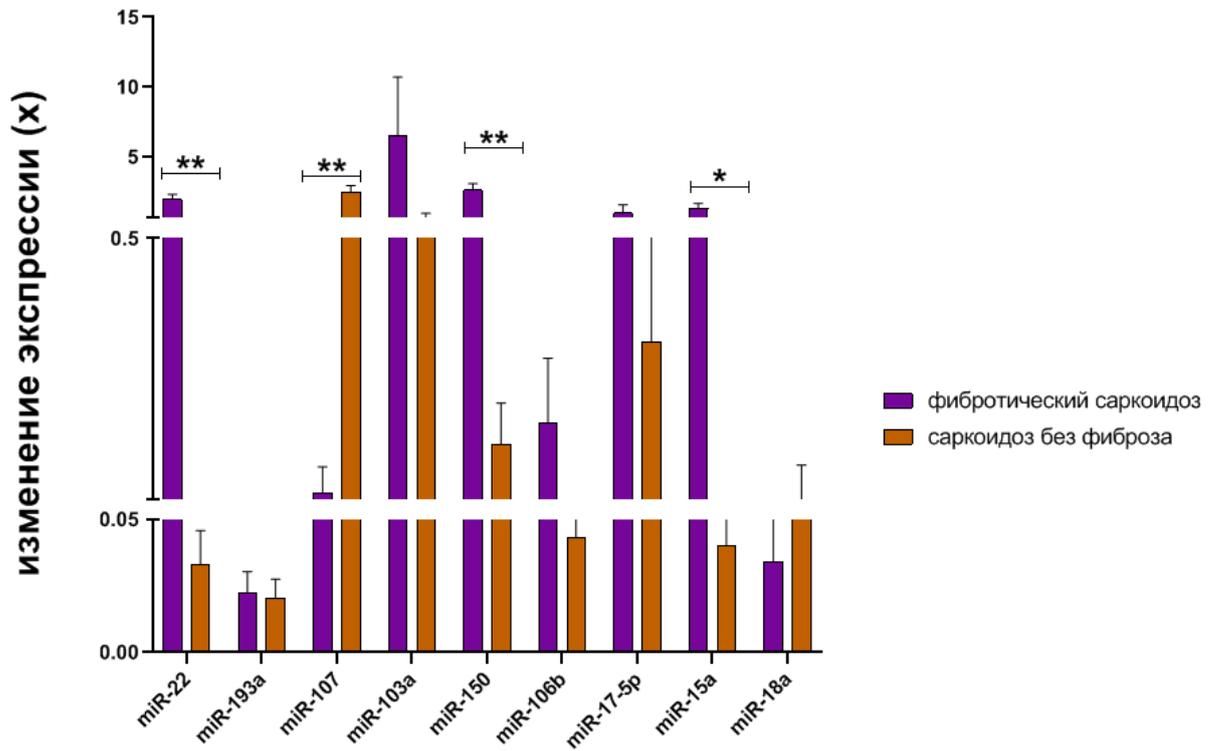


Рисунок 8 – Различия в профиле экспрессии микроРНК в сыворотке крови больных саркоидозом без фиброза и фибротическим саркоидозом

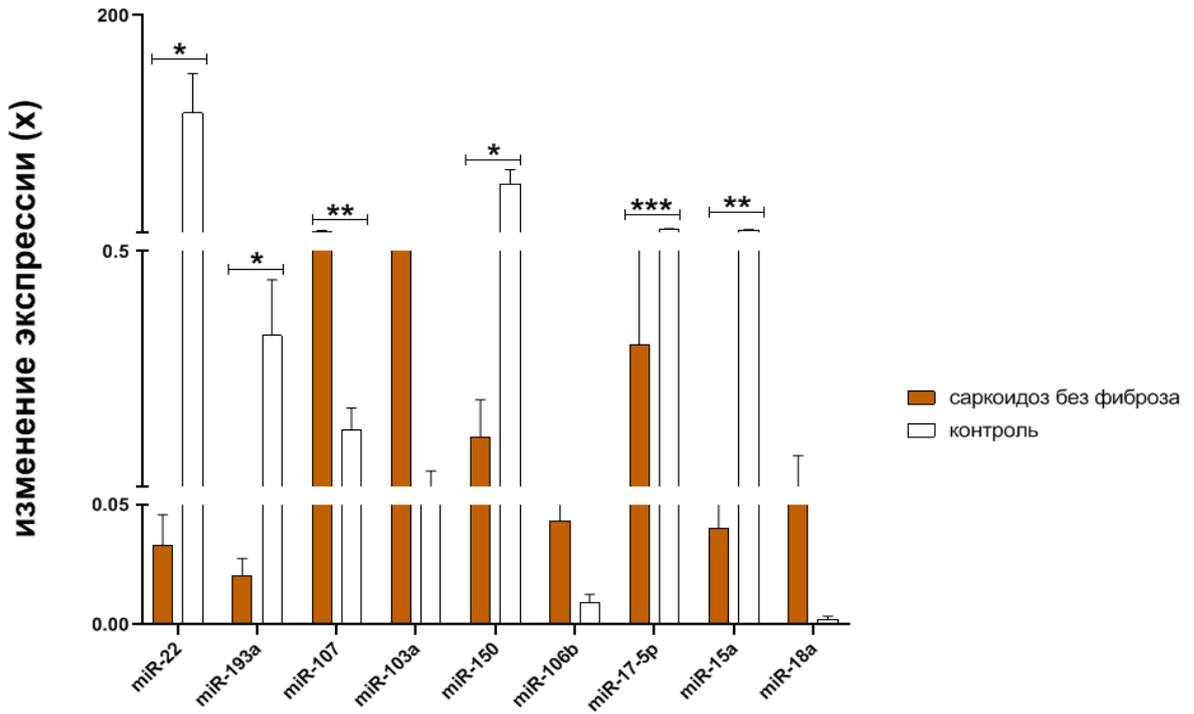


Рисунок 9 – Экспрессия генов, кодирующих зрелые микроРНК, в сыворотке крови пациентов с саркоидозом и отсутствием или наличием признаков ФФ и здоровых

лиц

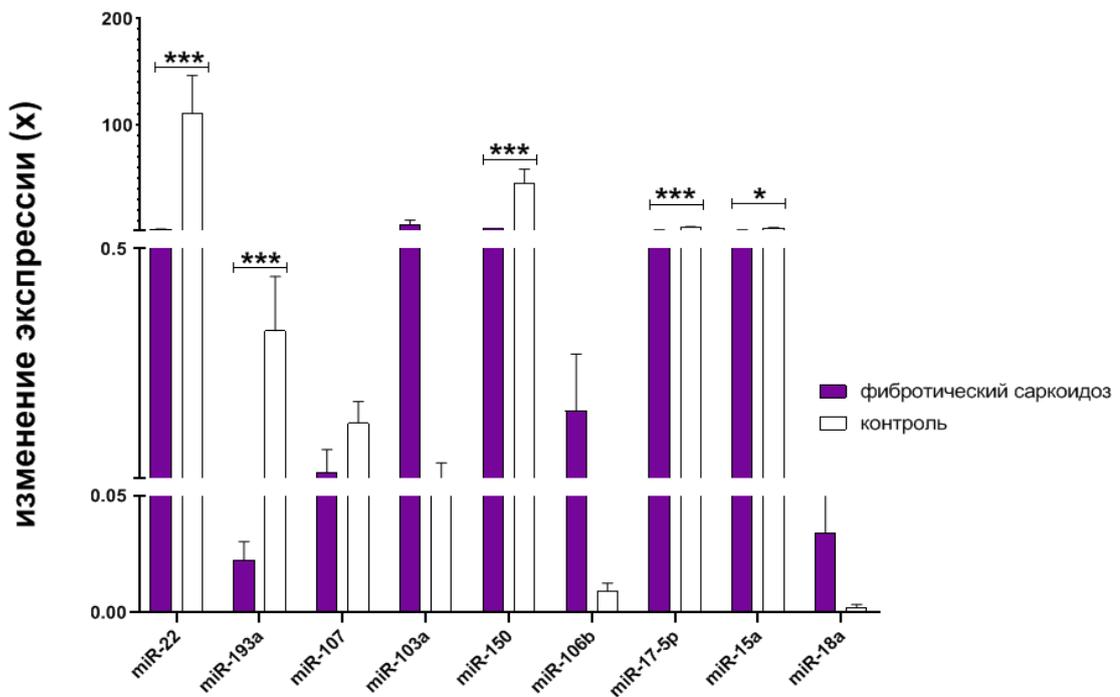


Рисунок 10 – Экспрессия генов, кодирующих зрелые микроРНК, в сыворотке крови пациентов с саркоидозом и отсутствием признаков ФФ и здоровых лиц

Были выявлены статистически значимые различия в уровне экспрессии miR-22 (регулирует дифференцировку фибробластов в миофибробласты, ингибируя индуцированную TGF- $\beta$ 1 экспрессию  $\alpha$ -SMA через сигнальный путь ERK1/2 [99], miR-150 (участвует в регуляции апоптоза), miR-107 (является антифибротической; ингибирует HIF1 $\alpha$  рецептор тромбоцитарного фактора роста  $\beta$  [41]) у пациентов с фибротическим фенотипом саркоидоза относительно больных с острым течением саркоидоза.

Анализ данных методом ПЦР в реальном времени показал, что у пациентов с фибротическим вариантом саркоидоза была достоверно повышена экспрессия miR-15a, miR-150 и miR-22 по сравнению с пациентами с саркоидоза без фиброза. У пациентов с фибротическим вариантом саркоидоза была достоверно снижена экспрессия miR-193a, miR-22, miR-150 по сравнению с группой контроля, уровень экспрессии miR-15 и miR-17-5 был равен уровню таковых у пациентов из группы контроля. Ослабление регулирующего влияния микроРНК способствует активизации продукции провоспалительных факторов и как следствие приводит к образованию фиброза.

У пациентов с саркоидозом без фиброза в сравнении группой контроля отмечено снижение экспрессии miR-22, miR-150, miR-15a, miR-193a, miR-17-5 и увеличение экспрессии miR-107, miR103a (таблицы 18–19).

Таблица 18 – Результаты анализа данных уровня экспрессии микроРНК между группой пациентов без фиброза и здоровыми лицами

микроРНК	Саркоидоз без фиброза, УЕ	Группа контроля, УЕ	p
miR-107	2,4	0,17	<b>0,002*</b>
miR-15	0,04	3,13	<b>0,002*</b>
miR-22	0,03	110,8	<b>0,03*</b>
miR-150	0,16	45,2	<b>0,03*</b>
miR-193a	0,02	0,34	<b>0,03*</b>
miR-17-5	0,32	4	<b>0,0005*</b>

Примечание: \* p<0,05.

Таблица 19 – Результаты анализа данных уровня экспрессии микроРНК между группой пациентов с фиброзом и здоровыми лицами.

микроРНК	Саркоидоз с фиброзом, УЕ	Группа контроля, УЕ	p
miR-15	1,29	3,13	<b>0,02*</b>
miR-22	1,95	110,8	<b>0,009*</b>
miR-150	2,6	45,2	<b>0,007*</b>
miR-193a	0,02	0,34	<b>0,006*</b>
miR-17-5	0,9	4	<b>0,003*</b>

Примечание: \* p<0,05.

Так же был проведен корреляционный анализ между показателем диффузионной способности легких и уровнем экспрессии значимых микроРНК у пациентов с саркоидозом (таблица 20).

Таблица 20 – Корреляция между уровнем экспрессии микроРНК и DLCO у пациентов с саркоидозом

	Саркоидоз без фиброза	Саркоидоз с фиброзом
miR-22	<b>0,02*</b>	0,7
miR-107	0,3	0,6
miR-150	<b>-0,039*</b>	-0,25
miR-106b	<b>0,02*</b>	0,54
miR-17	-0,2	0,4
miR-15a	<b>-0,01*</b>	-0,1

Примечание: \* p<0,05.

Проведен корреляционный анализ между показателем диффузионной способности легких и уровня экспрессии микроРНК. Отмечена достоверная отрицательная корреляционная связь между miR-15a, miR-150 и уровнем DLCO у пациентов без фиброза – чем выше уровень экспрессии микроРНК, тем ниже уровень диффузионной способности легких. Так же отмечена положительная



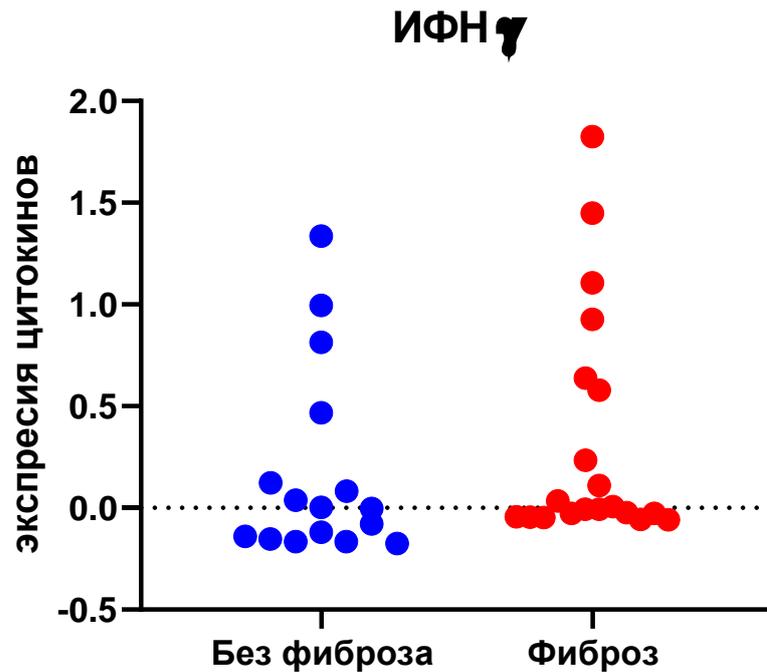


Рисунок 12 – Продукция ИФН $\gamma$  в сыворотке крови больных саркоидозом

При проведении корреляционного анализа уровня экспрессии цитокинов с основными функциональными и лабораторными показателями, статистически значимых различий не выявлено.

В результате проведенного нами исследования был определен набор из зрелых сывороточных микроРНК, участвующих в фиброобразовании и свидетельствующих о развитии воспаления (miR-22, miR-150, miR-106b, miR-15, miR-17-5p) в легочной ткани больных ГП и саркоидозом. Включенные в данный набор микроРНК могут быть использованы в клинической практике в качестве диагностических маркеров активности заболевания и прогрессирования процесса фиброобразования в легочной ткани больных ГП и саркоидозом.

## 4.5 Клинические примеры

### *Клинический пример № 1*

*Пациентка С., 65 лет, с детства поллиноз, с обострениями в весенне-летний период (последние 4 года прививалась Рузамом). Одышка при физической нагрузке впервые появилась в 2014 г. К врачам не обращалась. В 2018 г. находилась на лечении в больнице г. Баку по поводу внебольничной пневмонии. В это же время на КТ ОГК выявлены двусторонние изменения в легких. В условиях проводимой антибактериальной терапии достигнуто разрешение пневмонии, сохранялась одышка. В июне 2019 г. выросла одышка, появился малопродуктивный кашель. Пациентка находилась на лечении и обследовании в ГКБ №24 г. Москвы. В результате проведенного обследования, был установлен диагноз гиперчувствительного пневмонита (морфологическая верификация не проводилась). На КТ ОГК 21.06.19 г. фиброзирование верхушек легких. На фоне сетчатого уплотнения легочной паренхимы, в базальных сегментах отмечается уплотнение стенок сегментарных и субсегментарных бронхов с расширением их просветов, наличие тонкостенных полостей без содержимого, диаметром до 19 мм. Была начата терапия преднизолоном 20 мг/сут, затем метилпреднизолон 12 мг/сут. В условиях проводимой терапии кашель незначительно уменьшился, одышка сохранялась. Пациентка была консультирована в ФГБНУ «ЦНИИТ», рекомендовано продолжить прием метилпреднизолона 12 мг/сут, к лечению добавлен микофенолата мофетил 750 мг/сут. В ноябре 2019 г. вновь усилилась одышка, появился кашель с вязкой мокротой. 06.12.19 г. на КТ ОГК появились распространенные участки «матового стекла». На фоне уплотненной легочной ткани визуализировались участки повышенной пневматизации, обусловленные «воздушными ловушками». Легочный рисунок резко деформирован за счет фиброзной трансформации соединительной ткани интерстиция. В субплевральных отделах отмечалась мелкосетчатая деформация за счет уплотнения внутридолькового интерстиция – изменения по типу «сотового легкого». Стенки бронхов деформированы с формированием разнокалиберных бронхоэктазов.*

Изменения нарастали к базальным отделам, выражены в средней доле правого легкого. Учитывая нарастание изменений, по сравнению с предыдущим исследованием, было рекомендовано продолжить комбинированную терапию метилпреднизолоном 8 мг/сут и микофенолата мофетилем 750 мг/сут. В условиях проводимой терапии, у пациентки сохранялся кашель с трудноотделяемой мокротой, появилась одышка в покое. Пациентка была госпитализирована в 4 терапевтическое отделение ФГБНУ «ЦНИИТ» для обследования и лечения.

Состояние при поступлении средней тяжести. Пациентка предъявляла жалобы на выраженную одышку (mMRC 3балла) при незначительной физической нагрузке, кашель с трудноотделяемой мокротой слизистого характера, чаще ночью. ИМТ 27,3 кг/м<sup>2</sup>. Кожа и слизистые оболочки чистые, обычной влажности и окраски. Отеков нет. Периферические лимфатические узлы не изменены. В легких дыхание везикулярное, выслушивались трескучие хрипы, преимущественно в нижних отделах. ЧДД 20 в мин. SpO<sub>2</sub> 94%. Тоны сердца звучные, ритмичные. ЧСС 78 в мин. АД 120/80 мм рт. ст. Живот при пальпации мягкий, безболезненный. Печень по краю реберной дуги, не увеличена.

При исследовании лабораторных показателей в клиническом анализе крови патологических изменений не отмечалось – гемоглобин 134 г/л, эритроциты  $4,96 \times 10^9$ /л, лейкоциты  $6,8 \times 10^9$ /л, п/я лейкоциты 1%, с/я лейкоциты 47%, эозинофилы 3%, моноциты 9%, лимфоциты 40%, СОЭ 15 мм/ч (по Вестергрену). Уровень общего белка 69,5 г/л, С-реактивный белок – 2 мг/л.

При исследовании функции внешнего дыхания отмечалось изменение вентиляционной способности легких по рестриктивному типу. ЖЕЛ 1,62л/73%, ФЖЕЛ 1,63л/75,9%, ОФВ<sub>1</sub> 1,54л/87,4%, ОФВ<sub>1</sub>/ФЖЕЛ 123,7%.

При бодиплетизмографии изменение структуры ОЕЛ по рестриктивному типу: значительное снижение ОЕЛ, умеренное снижение ЖЕЛ за счет снижения емкости вдоха, ООЛ на НГН, ВГО и ООЛ/ОЕЛ, ВГО/ОЕЛ в норме. Легкие рестриктивные изменения вентиляционной способности легких. Умеренное повышение общего бронхиального сопротивления и на выдохе, удельная БП в норме.

Диффузионная способность легких (DLCO) 35,1%.

На компьютерной томограмме КТ ОГК в декабре 2019 г. распространенные участки «матового стекла». На фоне уплотненной легочной ткани визуализируются участки повышенной пневматизации, обусловленные «воздушными ловушками». В субплевральных отделах отмечается мелкосетчатая деформация за счет уплотнения внутридолькового интерстиция – изменения по типу «сотового легкого». Стенки бронхов деформированы с формированием тракционных бронхоэктазов. Изменения нарастают к базальным отделам, выражены в средней доле правого легкого (рисунок 13).

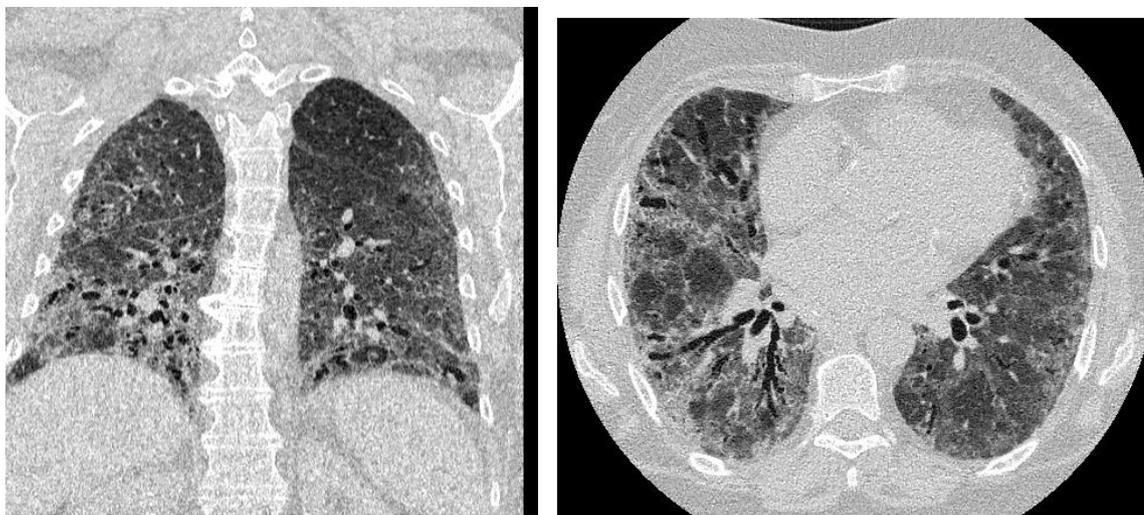


Рисунок 13 – КТ ОГК пациентки при поступлении: слева – фронтальная реконструкция, легочное окно; справа – аксиальная реконструкция, легочное окно

Для исключения недостаточности кровообращения выполнена эхокардиография: умеренная дилатация левого предсердия. Концентрическая гипертрофия левого желудочка. Систолическая функция левого желудочка в норме. Фракция выброса левого желудочка 68%. Аорта не расширена, стенки уплотнены. Кальцинат на задней створке митрального клапана. Диастолическая дисфункция левого желудочка по 1 типу. Зон нарушения локальной сократимости нет. Жидкости в полости перикарда нет. Среднее давление в легочной артерии – 26 мм рт.ст.

На основании данных анамнеза (длительно поллиноз), характерной клинической картины (малопродуктивный кашель, медленно прогрессирующая одышка при незначительной физической нагрузке), рентгенологической картины (распространенные участки «матового стекла», воздушные ловушки, изменения внутريدолькового интерстиция по типу «сотового легкого»).

У пациентки с хроническим гиперчувствительным пневмонитом, длительно получающей противовоспалительную терапию системными кортикостероидами и микофенолата мофетиллом, отмечается усиление одышки и кашля, нарастание диффузных изменений в легких. В клинике была увеличена доза системных кортикостероидов. В условиях проводимой терапии было достигнуто улучшение состояния пациентки и регресс респираторной симптоматики.

Пациентке в клинике выполнено исследование уровня экспрессии микроРНК. Отмечались повышенные уровни экспрессии *miR-22*- 7,808546, *miR-106b* – 9,613448. По данным литературы, эти микроРНК регулируют дифференцировку фибробластов в миофибробласты и ингибируют развитие фиброза. Повышение экспрессии микроРНК в данном случае коррелируют с симптомами и данным КТ ОГК пациентки и может быть использовано в качестве диагностических маркеров при прогнозировании течения фибротического варианта ГП.

### ***Клинический пример № 2***

*Пациентка Б., 48 лет,* у пациентки порок развития легкого – кистозная гипоплазия легких. Диагноз саркоидоза верифицирован морфологически (ВТС биопсия легкого) в 2015 г. С 2016 г. у пациентки на КТ ОГК внутригрудная лимфаденопатия, с признаками медиастинального фиброза, с выраженными фиброзными изменениями в легких, тракционными бронхоэктазами, сохраняется кистозная гипоплазия левого легкого, перилимфатическая диссеминация в легких. Изменения в легких характерны для фибротического варианта саркоидоза. У пациентки сохранялась одышка при физической нагрузке, слабость, чувство заложенности в грудной клетке. Пациентка принимала длительно системные кортикостероиды, цитостатики без должного клинического эффекта. В условиях

приема цитостатиков у пациентки отмечались частые респираторные инфекции. Наблюдалась у пульмонолога, ежегодно выполняла КТ ОГК. По данным рентгенологического обследования в 2016-2022 гг., у пациентки отмечалось постепенное медленное прогрессирование фибротических изменений, сохранялась внутригрудная лимфаденопатия, признаки кистозной гипоплазии легких. Попытки отмены системных кортикостероидов приводили нарастанию перилимфатической диссеминации в легких и сопровождались вентиляционными нарушениями, подтверждаемые при исследовании ФВД. В июле 2022 г. пациентка прекратила прием метилпреднизолона. При динамическом наблюдении у пациентки отмечается постепенное усиление одышки, и кашля с выделением слизистой мокроты, общей слабости. В декабре 2022 г. у пациентки появилась одышка при незначительной физической нагрузке (подъем по лестнице на 3 этаж), появился малопродуктивный кашель, с этого же времени, пациентка стала отмечать снижение массы тела. В марте 2023 г. на КТ ОГК по сравнению с КТ исследованием от апреля 2022 г. отмечалась отрицательная динамика – нарастание фиброзных изменений в нижних отделах легких (рисунок 14).

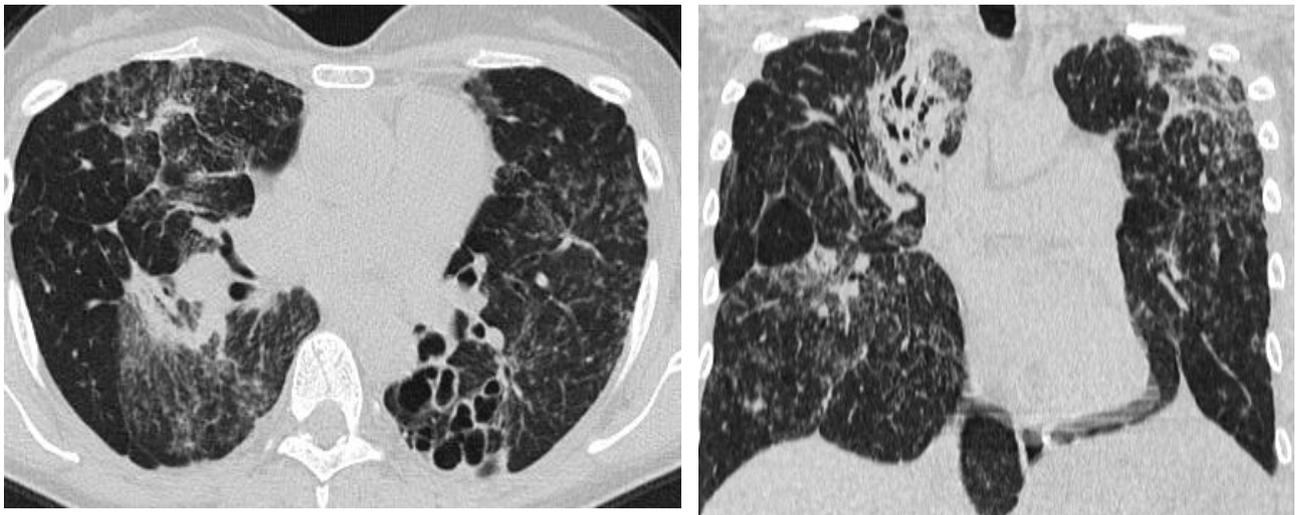


Рисунок 14 – КТ ОГК пациентки в марте 2023 г.: слева – аксиальная реконструкция, легочное окно; справа – фронтальная реконструкция, легочное окно

По данным ФВД у пациентки отмечалось дальнейшее снижение вентиляционной способности легких по смешанному типу, также выявлена обструкция средней степени тяжести, умеренное снижение ЖЕЛ. Снижение диффузионной способности легких. Пациентки к лечению добавлены бронхолитики длительного действия. С декабря 2022 г. по ноябрь 2023 г. у пациентки уровень DLco (диффузионной способности легких) снизился на 8% (с 55,4 до 47,5%). Пациентка постоянно принимает метипред 4 мг/день, учитывая высокие риски присоединения бактериальной инфекции, терапия цитостатическими препаратами не назначалась. За последние 12 месяцев пациентка похудела на 7 кг, аппетит сохранен. В мае 2023 г. на КТ ОГК отмечалось нарастание перилимфатической диссеминации в легких с появлением участков «матового стекла», на фоне выраженных фиброзных изменений в легких, кистозная гипоплазия левого легкого. Легкие уменьшены в объеме, преимущественно за счет верхних отделов. В связи с прогрессирующим ухудшением состояния, доза метилпреднизолона была увеличена до 8 мг/день. В условиях приема препарата, у пациентки уменьшилась интенсивность кашля, сократилось количество выделяемой мокроты, сохранялась одышка при физической нагрузке. В октябре 2023 г. на КТ ОГК отмечается незначительное рассасывание перилимфатических очагов и участков «матового стекла». Сохранялись распространенные фиброзные изменения в легких с формированием фиброателектаза справа, также сохраняются кистозные бронхоэктазы в левом легком без признаков активности, свободные от содержимого (рисунок 15). Пациентка отмечает сохраняющуюся одышку, появились эпизоды повышения АД, также отмечается дальнейшее снижение массы тела. В декабре 2023 г. пациентка была консультирована пульмонологом, аускультативно в легких на фоне жесткого дыхания, с множественными сухими хрипами и крепитацией выслушивался шум трения плевры. Пациентка была госпитализирована в 4 терапевтическое отделение ФГБНУ «ЦНИИТ» для обследования.

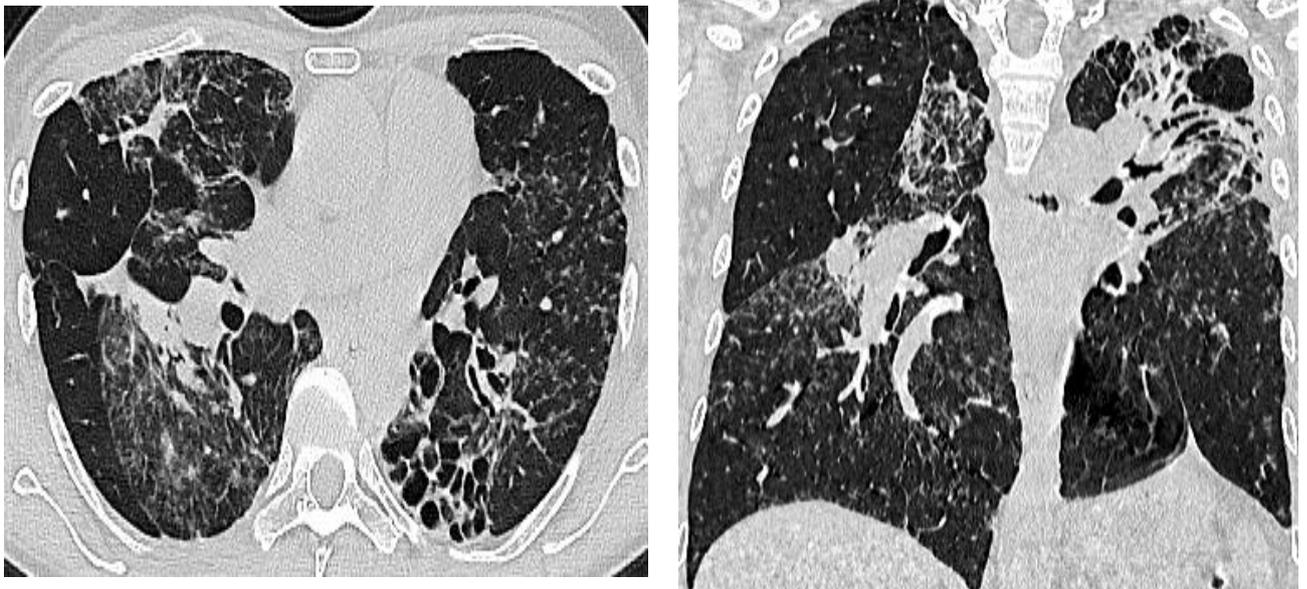


Рисунок 15 – КТ ОГК пациентки при поступлении: слева – аксиальная реконструкция, легочное окно; справа – фронтальная реконструкция, легочное окно

Состояние при поступлении средней тяжести. Жалобы на приступообразный непродуктивный кашель, одышку при минимальной физической нагрузке (mMRC 2), слабость, снижение веса. ИМТ 20,1 кг/м<sup>2</sup>. Кожа и слизистые оболочки чистые, обычной влажности и окраски. Отеков нет. Периферические лимф. узлы не увеличены. В легких справа сухие хрипы по типу «хруста снега», в средних и верхних отделах справа – трескучие хрипы. ЧДД 21 в мин., SpO<sub>2</sub> на воздухе в покое 94%. Тоны сердца звучные, ритмичные. ЧСС 82 в мин. АД 140/90 мм рт. ст. Живот при пальпации мягкий безболезненный. Печень по краю реберной дуги. Симптом поколачивания отрицательный с обеих сторон.

При исследовании лабораторных показателей в клиническом анализе крови патологических изменений не отмечалось – гемоглобин 141 г/л, эритроциты  $4,73 \times 10^9$ /л, лейкоциты  $5,3 \times 10^9$ /л, п/я лейкоциты 2%, с/я лейкоциты 52%, эозинофилы 5%, лимфоциты 32%, моноциты 9%, СОЭ 20 мм/ч (по Вестергрену). В биохимическом анализе крови патологических изменений так же не отмечалось. При исследовании вентиляционной функции легких отмечалось изменение вентиляционной функции легких по смешанному типу. ЖЕЛ 2,42 л/69,2%, ФЖЕЛ 2,42 л/71,2%, ОФВ<sub>1</sub>/ФЖЕЛ 1,42л/48,7%.

Изменение структуры ОЕЛ по рестриктивному типу: умеренное снижение ОЕЛ, ЖЕЛ больше за счет снижения Евд. Остальные объемы и емкости легких в норме. Снижение вентиляционной способности легких по обструктивному типу тяжелой степени. Умеренное повышение бронхиального сопротивления общего, на выдохе и вдохе, умеренное снижение удельной бронхиальной проводимости. Значительное снижение диффузионной способности легких, показатель удельной диффузии выше нижней границы нормы.

Диффузионная способность легких 48,5%.

Для исключения недостаточности кровообращения была выполнена эхокардиография: Полости сердца не расширены. Умеренная гипертрофия правого желудочка. Систолическая функция левого желудочка в норме. Аорта не расширена, стенки не изменены. Проплапс трикуспидального клапан. Зон нарушения локальной сократимости нет. Жидкости в полости перикарда нет. Среднее давление в легочной артерии умеренно повышено 35 мм рт ст.

У пациентки с фибротическим вариантом саркоидоза в результате проведенного обследования выявлены признаки легочной гипертензии, которые могут быть причиной прогрессирующей одышки. Пациентка продолжена терапия низкой дозой системных кортикостероидов, в настоящее время от приема цитостатиков предпочтительно воздержатся в связи с высокими рисками инфекционных осложнений.

Пациентке было выполнено исследование микроРНК сыворотки крови. Выявлено повышение miR-22 и miR-150. По данным литературы miR-150 непосредственно участвует в развитии фиброза (в эпителиально-мезенхимальном переходе), miR-22 является одним из факторов дифференцировки фибробластов в миофибробласты, что говорит о том, что данным микроРНК могут быть использованы для диагностики прогрессирования фиброза у пациентов с хроническим течением саркоидоза ВГЛУ и легких.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Интерстициальные заболевания легких (ИЗЛ) – гетерогенная группа болезней, которые характеризуются поражением легочного интерстиция и дистальных отделов дыхательных путей [77]. Существует более 200 диффузных заболеваний легких с известным и неизвестным этиологическими факторами, которые различаются по клиническим проявлениям, течению, прогнозу, эффективностью лечения, рисками летальных исходов и осложнений. Многие ИЗЛ могут приобретать прогрессирующее течение, несмотря на проводимую терапию, при этом прогрессирование заболевания, как правило, связано с продолжающимся фиброобразованием в легочной ткани. Одним из таких ИЗЛ является идиопатический легочный фиброз (ИЛФ), который характеризуется неблагоприятным прогнозом течения заболевания, со средней продолжительностью жизни от 3 до 5 лет и неэффективностью противовоспалительной терапии, диагностика которого является наиболее сложным процессом, а диагностические ошибки могут вести к фатальным последствиям. В настоящее время сохраняется высокий интерес к ИЗЛ с фиброзным фенотипом (ФФ), отличных от ИЛФ [2]. Такой фенотип ИЗЛ при отсутствии своевременно назначенной антифибротической терапии по прогнозам близок к идиопатическому легочному фиброзу (ИЛФ) по темпам снижения легочной функции, риску летального исхода и обострений [148]. Распространенность ИЗЛ ПФФ составляет около 20 больных на 100 000 населения в Европе, или 13–40% всех ИЗЛ [44, 50, 156]. Установлено, при ИЗЛ в воспалительном процессе принимают участие большое количество провоспалительных и противовоспалительных медиаторов, от взаимодействия которых зависит исход воспаления и формирование фиброза. В настоящее время известно, что раннее начало противовоспалительной терапии может предотвратить или замедлить формирование легочного фиброза. В настоящее время ведется активный поиск биомаркеров, позволяющих прогнозировать и определить раннее начало процесса фиброобразования, для которое могло бы стать ориентиром для

раннего назначения антифибротических препаратов, а также стать критерием ее эффективности. Этим и объясняется попытка поиска надежных клинических показателей и биомаркеров, позволяющих определить раннее начало процесса фиброобразования при ИЗЛ.

Цель исследования являлось исследование основных клинико-лабораторных показателей у пациентов с ИЗЛ с фиброзирующим фенотипом и выявление маркеров-предикторов фиброобразования, которые позволят своевременно назначить терапию.

Задачи исследования:

1. Охарактеризовать клинические проявления фибротического фенотипа у пациентов с хроническим ГП и саркоидозом органов дыхания.

2. Оценить связь клинико-рентгенологических показателей с данными спирометрии и диффузионной способности легких при хроническом ГП и саркоидозе.

3. Оценить различия уровня цитокинов (ФНО, ИФН $\gamma$ ) в сыворотке крови у пациентов с наличием или отсутствием клинико-рентгенологических признаков ФФ при хроническом ГП и саркоидозе органов дыхания.

4. Оценить роль микроРНК как биомаркеров фиброобразования легочной ткани у пациентов с хроническим ГП и саркоидозом органов дыхания.

5. Для выполнения поставленных задач был проведен анализ когорты пациентов, результате анализа которой, было отобрано 76 человек, подходящих под все критерии включения и сформировано две группы:

– группа 1 – пациенты с ИЗЛ, куда вошли пациенты с гиперчувствительным пневмонитом с фиброзом и без фиброза (n=44);

– группа 2 пациенты с саркоидозом, с наличием или отсутствием фибротических изменений (n=32).

Во время лабораторного этапа обследования в обеих группах проводилось сравнение микроРНК включенных пациентов с микроРНК группы здоровых лиц (20 здоровых сотрудников ФГБНУ «ЦНИИТ»).

Во время клинического этапа обследования у всех пациентам оценивались продолжительность заболевания, наличие или отсутствие респираторных симптомов, тест 6-минутной ходьбы, данные компьютерной томографии ОГК, клинического анализа крови, уровень С-реактивного белка, функция внешнего дыхания (спирометрия, исследование диффузионной способности легких). На втором этапе в каждой подгруппе были отобраны наиболее сопоставимые по всем клиническим параметрам пациенты – 15 человек. Сравнение проводили между двумя подгруппами пациентов и с группой здоровых лиц. Группа здоровых лиц (группа контроля) – 20 здоровых сотрудников ФГБНУ «ЦНИИТ» в возрасте от 18 до 50 лет, без сопутствующей патологии и изменений в легких по данным КТ ОГК. У всех пациентов забирала кровь на момент поступления в клинику и определяли микроРНК в сыворотке крови. Статистическая обработка результатов исследования проводилась с использованием пакета программ Microsoft Excel, Prism GraphPad, NanoStat. Описательная статистика использовалась для оценки ранговой вариации путем вычисления среднего арифметического (M), стандартного отклонения, ошибки среднего арифметического (m) и медианы нормального распределения. Значимость различий анализировалась путем проверки нулевой гипотезы, которая при отсутствии различий была отвергнута при  $p < 0,05$ , использовался критерий Манна-Уитни. Для оценки корреляции использовался непараметрический критерий Спирмена, который позволял оценивать корреляции независимо от нормальности распределения полученных данных.

В результате проведенного исследования и сравнения клинических симптомов, при оценке клинико-рентгенологической картины, лабораторных показателей, выявлено, что у пациентов с фибротическим фенотипом ИЗЛ отмечается более выраженная респираторная симптоматика (прогрессирующая одышка), наличие признаков фиброза по данным КТ ОГК, прогрессирующее снижение толерантности физической нагрузки по данным 6-минутного шагового теста. При оценке функциональных показателей, у большинства пациентов с ИЗЛ отмечается умеренное снижение ФЖЕЛ, ЖЕЛ, диффузионной способности легких.

Пациенты с фибротическим фенотипом ИЗЛ показывают резкое снижение диффузионной способности легких, в особенности, пациенты с фибротическим вариантом гиперчувствительного пневмонита. Для пациентов с фибротическим фенотипом ГП в отсутствие антифибротической терапии в отличие от пациентов без фиброза в исходе болезни характерно наличие выраженной одышки при незначительной физической нагрузке (mMRC 2-3 балла), сухой кашель, наличие трескучих хрипов в базальных отделах легких при аускультации. У пациентов с ГП и распространенными фиброзными изменениями в легких на КТ ОГК при исследовании функции внешнего дыхания отмечено умеренное или выраженное снижение DLCO. У пациентов без фибротических изменений в легких на КТ ОГК показатель DLCO составил, в среднем,  $66,7 \pm 4,1\%$ , что статистически значимо превышало значение DLCO у пациентов с фибротическими изменениями -  $31 \pm 2,9\%$  ( $p < 0,05$ );

В результате иммунологического исследования, нами был выделен набор микроРНК (miR-22, miR-150, miR-106b, miR17-5p), которые могут послужить диагностическими маркерами активности и прогрессирования процесса фиброзирование в легочной ткани.

Нами было установлено, что у пациентов с фибротическим фенотипом ГП была достоверно повышена экспрессия miR-375 и miR-193a по сравнению с пациентами с нефибротическим ГП. В то время как в сыворотке пациентов с нефибротическим ГП по сравнению с пациентами с фибротическим ГП была достоверно повышена экспрессия таких микроРНК как miR-106b, miR-18a, и miR-15a.

Обращает на себя внимание тенденция к снижению содержания микроРНК в сыворотке крови больных ГП без фиброза как по сравнению с контролем, так и с группой больных с фибротическим фенотипом ГП, что может служить отражением воспалительных реакций, сопровождающих заболевание. Ослабление регулирующего влияния микроРНК сопутствует активизации продукции провоспалительных факторов.

Проведенный корреляционный анализ между показателем диффузионной способности легких и уровня экспрессии микроРНК, показал наличие положительной корреляционной связи между miR-106b и отрицательная корреляционная связь между miR-15a и показателем диффузионной способности легких у пациентов с фибротическим фенотипом ГП.

При исследовании уровня экспрессии микроРНК у пациентов с саркоидозом были выявлены статистически значимые различия в уровне экспрессии miR-22, miR-150, miR-107 у пациентов с фибротическим фенотипом саркоидоза относительно пациентов с саркоидозом без признаков фиброза.

При исследовании уровня цитокинов в сыворотке крови пациентов обеих групп, выявлено снижение уровня ИФН $\gamma$  у пациентов без признаков фиброза по данным КТ ОГК. Уровень ФНО был повышен у пациентов с признаками фиброза.

Проведенный корреляционный анализ между показателем диффузионной способности легких и уровня экспрессии микроРНК показал наличие достоверной отрицательной корреляционной связь между miR-103a и показателем диффузионной способности легких у пациентов с саркоидозом без фиброза.

Полученные результаты исследования позволяют расширить имеющиеся данные о диагностике фиброзировании легочной ткани, а также улучшить диагностику и получить потенциальные маркеры фиброзообразования в легких.

## ВЫВОДЫ

1. Для пациентов с фибротическим фенотипом ГП и саркоидоза органов дыхания в отсутствие антифибротической терапии в отличие от пациентов без фиброза легких в исходе болезни характерно наличие выраженной одышки при незначительной физической нагрузке (mMRC 2-3 балла), сухой кашель, наличие трескучих хрипов в базальных отделах легких при аускультации;

2. У пациентов с хроническим ГП и признаками ФФ на КТ ОГК в отличие от пациентов без фиброзных изменений в легких на КТ ОГК отмечено достоверное снижение среднего показателя DLCO –  $31 \pm 2,9\%$  и  $66,7 \pm 4,1\%$ , соответственно; при саркоидозе достоверных различий не получено –  $58,9 \pm 13,6\%$  и  $64 \pm 8,1\%$

3. Показано отсутствие статистически значимой связи между клинико-рентгенологическими признаками ФФ у пациентов с хроническим ГП и саркоидозом органов дыхания и средними показателями цитокинов - ФНО и ИФН $\gamma$ , что не позволяет использовать их для прогнозирования фиброобразования в легких.

4. Для больных с ФФ ГП характерно достоверное повышение экспрессии следующих микроРНК: miR-106b, miR-150, miR-22; у больных с ФФ саркоидоза - достоверное повышение экспрессии miR-15, miR-22, miR-150 и снижение экспрессии miR-193a, miR-17-5.

5. Выявление статистически значимого повышения уровня экспрессии miR-22, miR-150 у пациентов с ФФ саркоидоза может быть использовано в качестве маркера фиброобразования легочной ткани при саркоидозе.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Пациенты с хроническим ГП и саркоидозом требуют длительного наблюдения с мониторингом выраженности симптомов, периодическим проведением КТ ОГК, спирометрии, исследованием диффузионной способности легких и при выявлении тенденции к формированию фиброза – исследованием уровня микроРНК в сыворотке крови для подтверждения фиброзной трансформации легочной ткани.
2. При выявлении фиброзировании легочной ткани, необходимо решить вопрос об усилении противовоспалительной терапии или назначении антифибротической терапии.
3. Для выявления фибротического фенотипа ГП требуется определение экспрессии микроРНК miR-22, miR-150, miR-106b, miR17-5p; фибротического варианта саркоидоза – miR-22, miR-150, miR-107.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

ГП – гиперчувствительный пневмонит

ЖЕЛ – жизненная емкость легких

ИЗЛ – интерстициальные заболевания легких

ИЛФ – идиопатический легочный фиброз

ИФН – интерферон

КТВР – компьютерная томография высокого разрешения

НсИП – неспецифическая интерстициальная пневмония

ОФВ<sub>1</sub> – объем форсированного выдоха за 1 секунду

ФФ – прогрессирующий фибротический фенотип

ПЦР – полимеразная цепная реакция

САФЛ – саркоидоз, ассоциированный с фиброзом легких

СЗСТ – системное заболевание соединительной ткани

СОД – саркоидоз органов дыхания

СОЭ – скорость оседания эритроцитов

СРБ – С-реактивный белок

ФВД – функция внешнего дыхания

ФЖЕЛ – форсированная жизненная емкость легких

ФНО – фактор некроза опухоли

ФФ – фибротический фенотип

ATS – American Thoracic Society (Американское торакальное общество)

DLCO – диффузионная способность легких

ERS – European Respiratory Society (Европейское респираторное общество)

6ТМХ – тест 6-минутной ходьбы

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Визель, И.Ю. Характеристика регистра больных саркоидозом в Республике Татарстан / И.Ю. Визель, А.А. Визель // Вестник современной клинической медицины. – 2015. – Т. 8, № 5. – С. 18-26.
2. «Возможный» или «вероятный»: новый подход в диагностике идиопатического легочного фиброза / Д.В. Петров, С.Н. Авдеев, О.В. Гаус [и др.] // Вестник рентгенологии и радиологии. – 2018. – Т. 99, № 4. – С. 216-226. – doi: 10.20862/0042-4676-2018-99-4-216-226.
3. Гиперчувствительный пневмонит. Федеральные клинические рекомендации / Российское респираторное общество. – Москва, 2022. – 56 с.
4. Диагностика и лечение идиопатического легочного фиброза: Федеральные клинические рекомендации / А.Г. Чучалин, С.Н. Авдеев, З.Р. Айсанов [и др.] // Пульмонология. – 2016. – Т. 26, № 4. – С. 399-419. – doi: 10.18093/0869-0189-2016-26-4-399-419.
5. Дифференциальная диагностика фибротического гиперчувствительного пневмонита с его нефибротическим фенотипом и обычной интерстициальной пневмонией при высокоразрешающей компьютерной томографии / И.Е. Тюрин, Д.А. Кулешов, М.В. Самсонова [и др.] // Вестник рентгенологии и радиологии. – 2023. – Т. 104, № 3. – С. 168-181.
6. Идиопатический легочный фиброз. Федеральные клинические рекомендации / Российское респираторное общество. – Москва, 2016. – 56 с.
7. Канаев, В.В. Общие вопросы методики исследования и критерии оценки показателей дыхания / В.В. Канаев // Руководство по клинической физиологии дыхания / Под ред. Л.Л. Шика, Н.Н. Канаева. – Л.: Медицина, 1980. – С. 21-36.
8. Клинико-морфологическая характеристика гиперчувствительного пневмонита / Э.В. Кусраева, М.В. Самсонова, Н.В. Трущенко, Е.Л. Туманова // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2021. – Т. 10, № 3. – С. 5-13. – doi: 10.31088/СЕМ2021.10.3.5-13.

9. Крюков, Е.В. Саркоидоз актуальная проблема различных силовых ведомств / Е.В. Крюков, Д.Н. Антипушина, А.А. Зайцев // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2016. – Т. 4, № 56. – С. 224-227.
10. Макарьянц, Н. Н. Муколитическая терапия экзогенного аллергического альвеолита подострого течения / Н.Н. Макарьянц, Е.И. Шмелев, Л.Н. Лепеха // Consilium Medicum. – 2012. – Т. 14, № 3. – С. 60-63.
11. Особенности распространения саркоидоза в условиях Москвы / Н.В. Русаков, Н.А. Мухин, Н.И. Брико [и др.] // Гигиена и санитария. – 2012. – № 4. – С. 16-18.
12. Полуколичественные визуальные методы оценки выраженности интерстициальных поражений легких по данным компьютерной томографии при системной склеродермии / В.Н. Лесняк, Л.П. Ананьева, О.А. Конева [и др.] // Пульмонология. – 2017. – Т. 27, № 1. – С. 41-50.
13. Результаты внедрения «Порядка оказания медицинской помощи больным саркоидозом» в городе Омске / Д.В. Петров, Н.В. Овсянников, А.Ю. Коненко [и др.] // Вестник современной клинической медицины. – 2013. – Т. 6, № 2. – С. 42-46.
14. Саркоидоз / Под ред. А.Г. Хоменко, О. Швайгера. – М.: Медицина, 1982. – 296 с.
15. Саркоидоз. Клинические рекомендации / Министерство здравоохранения РФ; Российское респираторное общество; Общероссийское Педиатрическое респираторное общество; Российское научное медицинское общество терапевтов. – Москва, 2022. – 47 с.
16. Саркоидоз. Монография / Под ред. А.А. Визеля (Серия монографий Российского респираторного общества; Гл. ред. серии Чучалин А.Г.). – М.: Издательский холдинг «Атмосфера», 2010. – 416 с.
17. Спирометрия: методическое руководство по проведению исследования и интерпретации результатов / М.Ю. Каменева, А.В. Черняк, З.Р. Айсанов [и др.] // Пульмонология. – 2023. – Т. 33, № 3. – С. 307-340.

18. Сравнение вновь выявленных больных саркоидозом молодого и старшего возраста / И.Ю. Визель, Е.И. Шмелев, А.А. Визель, Г.С. Ганибаева // РМЖ. – 2018. – Т. 10, № 1. – С. 16-20.
19. Фиброзирующий саркоидоз: от понимания к перспективе лечения / А.А. Визель, Ю.Ю. Горблянский, М.М. Илькович [и др.] // Практическая пульмонология. – 2021. – № 1. – С. 61-73.
20. Хронические фиброзирующие интерстициальные заболевания легких с прогрессирующим фиброзным фенотипом: резолюция Междисциплинарного Совета экспертов / С.Н. Авдеев, С.Ю. Чикина, И.Е. Тюрин [и др.] // Пульмонология. – 2021. – Т. 31, № 4. – С. 505-510.
21. Шмелев, Е.И. Дифференциальная диагностика идиопатического легочного фиброза / Е.И. Шмелев, А.Э. Эргешов, В.Я. Гергерт // Терапевтический архив. – 2020. – Т. 92, № 3. – С. 102-108. – doi: 10.26442/00403660.2020.03.000346.
22. Эпидемиология саркоидоза органов дыхания в Санкт-Петербурге (1998-2008) / О.П. Баранова, Н.В. Рефицкая, Т.А. Степаненко [и др.] // XIX Национальный конгресс по болезням органов дыхания. Сборник трудов конгресса / Под ред. акад. А.Г. Чучалина. – М.: ДизайнПресс, 2009. – С. 216-217.
23. A cohort study of interstitial lung diseases in central Denmark / С. Hyldgaard, O. Hilberg, A. Muller // Respiratory medicine. – 2014. – Vol. 108(5). – P. 793-799.
24. A distinct inhibitory function for miR-18a in Th17 cell differentiation / М.М. Montoya, J. Maul, P.B. Singh [et al.] // J Immunol. – 2017. – Vol. 199(2). – P. 559-569. – doi: 10.4049/jimmunol.1700170.
25. A systematic review of overlapping microRNA patterns in systemic sclerosis and idiopathic pulmonary fibrosis / G. Bagnato, W.N. Roberts, J. Roman [et al.] // European respiratory review. – 2017. – Vol. 26(144). – P. 160-175.
26. A vicious circle of alveolar macrophages and fibroblasts perpetuates pulmonary fibrosis via CCL18 / A. Prasse, D.V. Pechkovsky, G.B. Toews [et al.] // American journal of respiratory and critical care medicine. – 2006. – Vol. 173(7). – P. 781-792.

27. Analysis of Microarray-Identified Genes and MicroRNAs Associated with Idiopathic Pulmonary Fibrosis / L. Fan, X. Yu, Z. Huang [et al.] // *Mediators Inflamm.* – 2017. – Vol. 2017. – P. 180-240.
28. Annexins family: insights into their functions and potential role in pathogenesis of sarcoidosis / M. Mirsaiedi, S. Gidfar, A. Vu [et al.] // *J Transl Med.* – 2016. – Vol. 14. – P. 89. – doi: 10.1186/s12967-016-0843-7.
29. Anti-inflammatory cytokine release by alveolar macrophages in pulmonary sarcoidosis / G. Zissel, J. Homolka, J. Schlaak [et al.] // *Am J Respir Crit Care Med.* – 1996. – Vol. 154. – P. 713-719. – doi: 10.1164/ajrccm.154.3.8810610.
30. Benzaquen, S. Bronchoscopic modalities to diagnose sarcoidosis / S. Benzaquen, A.A. Aragaki-Nakahodo // *Current Opin Pulm Med.* – 2017. – Vol. 23. – P. 433-438.
31. Borg, G.A. Psychophysical bases of perceived exertion / G.A. Borg // *Med Sci Sports Exerc.* – 1982. – Vol. 14(5). – P. 377-381.
32. Chronic hypersensitivity pneumonitis in patients diagnosed with idiopathic pulmonary fibrosis: a prospective case-cohort study / F. Morell, A. Villar, M.Á. Montero [et al.] // *The lancet Respiratory medicine.* – 2013. – Vol. 1(9). – P. 685-694.
33. Chronic interstitial pneumonitis in end-stage sarcoidosis / H. Shigemitsu, J.M. Oblad, O.P. Sharma [et al.] // *European Respiratory Journal.* – 2010. – Vol. 35(3). – P. 695-697. – doi: 10.1183/09031936.00150609.
34. Chronic signaling via the metabolic checkpoint kinase mTORC1 induces macrophage granuloma formation and marks sarcoidosis progression / M. Linke, H.T.T. Pham, K. Katholnig [et al.] // *Nature immunology.* – 2017. – Vol. 18(3). – P. 293-302.
35. Circulating cytokines in sarcoidosis: phenotype-specific alterations for fibrotic and non-fibrotic pulmonary disease / K.C. Patterson, B.S. Franek, J. Muller-Quernheim [et al.] // *Cytokine.* – 2013. – Vol. 61(3). – P. 906-911.
36. Classification of Hypersensitivity PneumonitisA Hypothesis / Y. Lacasse, M. Selman, U. Costabel [et al.] // *International archives of allergy and immunology.* – 2009. – Vol. 149(2). – P. 161-166.

37. Clinical diagnosis of hypersensitivity pneumonitis / Y. Lacasse, M. Selman, U. Costabel [et al.] // *American journal of respiratory and critical care medicine*. – 2003. – Vol. 168(8). – P. 952-958.
38. Colby, T.V. The pathologist's approach to bronchoscopic biopsies / T.V. Colby // *Pathologica*. – 2010. – Vol. 102. – P. 432-442.
39. Combined Sarcoidosis and Idiopathic Pulmonary Fibrosis (CSIPF): A New Phenotype or a Fortuitous Overlap? Scoping Review and Case Series / L. Bergantini, G. Nardelli, M. d'Alessandro [et al.] // *Journal of Clinical Medicine*. – 2022. – Vol. 11(7). – P. 20-65.
40. Costabel, U. Chronic hypersensitivity pneumonitis / U. Costabel, F. Bonella, J. Guzman // *Clinics in chest medicine*. – 2012. – Vol. 33(1). – P. 151-163.
41. Current and prospective applications of exosomal microRNAs in pulmonary fibrosis (Review) / T. Yang, J. Wang, J. Zhao [et al.] // *Int J Mol Med*. – 2022. – Vol. 49(3). – P. 37.
42. Diagnosis of Fibrotic Hypersensitivity Pneumonitis: Is There a Role for Biomarkers? / J.O. Pereira, V. Fernandes, T.M. Alfaro [et al.] // *Life (Basel)*. – 2023. – Vol. 13(2). – P. 565. – doi: 10.3390/life13020565.
43. Downregulation of MicroRNA-30a in Bronchoalveolar Lavage Fluid from Idiopathic Pulmonary Fibrosis Patients / B. Liu, T. Jiang, X. Hu [et al.] // *Mol. Med. Rep.* – 2018. – Vol. 18. – P. 5799-5806.
44. Effects of corti-costeroid treatment and antigen avoidance in a large hypersensitivity pneumonitis cohort: A single-centre cohort study / L.J. De Sadeleer, F. Hermans, E. De Dycker [et al.] // *J. Clin. Med.* – 2019. – Vol. 8(1). – P. 14. – doi: 10.3390/jcm8010014.
45. Epidemiology of sarcoidosis in Japan / T. Morimoto, A. Azuma, S. Abe // *Eur. Respir. J.* – 2008. – Vol. 31(2). – P. 372-379.
46. Esteves, T. Is there any association between Sarcoidosis and infectious agents?: a review and meta-analysis / T. Esteves, G. Aparicio, V. Garcia-Patos // *BMC Pulm. Med.* – 2016. – Vol. 16(1). – P. 165. – doi: 10.1186/s12890-016-0332.

47. Exaggerated TNFalpha release of alveolar macrophages in corticosteroid resistant sarcoidosis / M.W. Ziegenhagen, M.E. Rothe, G. Zissel [et al.] // *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis.* – 2002. – Vol. 19(3). – P. 185-190.
48. Experimental Pulmonary Fibrosis Was Suppressed by MicroRNA-506 through NF-Kappa-Mediated Apoptosis and Inflammation / M. Zhu, Y. An, X. Zhang [et al.] // *Cell Tissue Res.* – 2019. – Vol. 378. – P. 255-265.
49. Expression of hypoxia-inducible factor (HIF)-1a-vascular endothelial growth factor (VEGF)-inhibitory growth factor (ING)-4-axis in sarcoidosis patients / A. Tzouveleakis, P. Ntoliou, A. Karameris [et al.] // *BMC research notes.* – 2012. – Vol. 24(5). – P. 654.
50. Fischer, A. Progressive fibrosing interstitial lung disease associated with systemic autoimmune diseases / A. Fischer, J. Distler // *Clin. Rheumatol.* – 2019. – Vol. 38(10). – P. 2673-2681. – doi: 10.1007/s10067-019-04720-0.
51. Forced vital capacity in patients with idiopathic pulmonary fibrosis: test properties and minimal clinically important difference / R.M. Du Bois, D. Weycker, C. Albera [et al.] // *American journal of respiratory and critical care medicine.* – 2011. – Vol. 184(12). – P. 1382-1389.
52. Functional prostaglandin-endoperoxide synthase 2 polymorphism predicts poor outcome in sarcoidosis / M.R. Hill, A. Papafili, H. Booth [et al.] // *Am J Respir Crit Care Med.* – 2006. – Vol. 174. – P. 915-922. – doi: 10.1164/rccm.200512-1839OC.
53. Genome-wide association study identifies ANXA11 as a new susceptibility locus for sarcoidosis / S. Hofmann, A. Franke, A. Fischer [et al.] // *Nat Genet.* – 2008. – Vol. 40. – P. 1103-1106. – doi: 10.1038/ng.198.
54. Guidelines for the clinical evaluation of hypersensitivity pneumonitis: report of the Subcommittee on Hypersensitivity Pneumonitis / H.B. Richerson, I.L. Bernstein, J.N. Fink [et al.] // *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* – 1989. – Vol. 84(5). – P. 839-844.
55. High throughput 16SrRNA gene sequencing reveals the correlation between *Propionibacterium acnes* and sarcoidosis / M.M. Zhao, S.S. Du, Q.H. Li [et al.] // *Respir. Res.* – 2017. – Vol. 18(1). – P. 28. – doi: 10.1186/s12931-017-0515-z.

56. Hoffman, A.L. Childhood sarcoidosis in Denmark 1979–1994: incidence, clinical features and laboratory results at presentation in 48 children / A.L. Hoffman, N. Milman, K.E. Byg // *Acta Paediatr.* – 2004. – Vol. 93. – P. 30-36.
57. Hsa-miR-375 promotes the progression of inflammatory bowel disease by upregulating TLR4 / C.-P. Wu, Y.-J. Bi, D.-M. Liu [et al.] // *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* – 2019. – Vol. 23(17). – P. 7543-7549. – doi: 10.26355/eurrev\_201909\_18871.
58. Hypersensitivity pneumonitis: perspectives in diagnosis and management / M. Vasakova, F. Morell, S. Walsh [et al.] // *American journal of respiratory and critical care medicine.* – 2017. – Vol. 196(6). – P. 680-689.
59. Identification and Validation of Potential Biomarkers and Pathways for Idiopathic Pulmonary Fibrosis by Comprehensive Bioinformatics Analysis / W. Qian, X. Cai, Q. Qian [et al.] // *BioMed Res. Int.* – 2021. – Vol. 2021. – P. 554-581.
60. Identification of Keratinocyte Growth Factor as a Target of MicroRNA-155 in Lung Fibroblasts: Implication in Epithelial-Mesenchymal Interactions / N. Pottier, T. Maurin, B. Chevalier [et al.] // *PLoS ONE.* – 2009. – Vol. 4. – P. e6718.
61. Identifying an inciting antigen is associated with improved survival in patients with chronic hypersensitivity pneumonitis / E.R.F. Perez, J.J. Swigris, A.V. Forssen // *Chest.* – 2013. – Vol. 144. – P. 1644-1651. – doi: 10.1378/chest.12-2685.
62. Idiopathic pulmonary fibrosis (an update) and progressive pulmonary fibrosis in adults: an official ATS/ERS/JRS/ALAT clinical practice guideline / G. Raghu, M. Remy-Jardin, L. Richeldi [et al.] // *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine.* – 2022. – Vol. 205(9). – P. e18-e47.
63. Idiopathic pulmonary fibrosis in BRIC countries: the cases of Brazil, Russia, India, and China / L. Richeldi, A.S. Rubin, S. Avdeev [et al.] // *BMC Medicine.* – 2015. – Vol. 13. – P. 237. – doi: 10.1186/s12916-015-0495-0.
64. Idiopathic pulmonary fibrosis in US Medicare beneficiaries aged 65 years and older: incidence, prevalence, and survival, 2001-11 / G. Raghu, S.Y. Chen, W.S. Yeh [et al.] // *Lancet Respir. Med.* – 2014; – Vol. 2(7). – P. 566-572. – doi: 10.1016/S2213-2600(14)70101-8.

65. IFN- $\gamma$ -producing T-helper 17.1 cells are increased in sarcoidosis and are more prevalent than T-helper type 1 cells / J. Ramstein, C.E. Broos, L.J. Simpson [et al.] // *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. – 2016. – Vol. 193(11). – P. 1281-1291.

66. Imaging patterns are associated with interstitial lung abnormality progression and mortality / R.K. Putman, G. Gudmundsson, G.T. Axelsson [et al.] // *Am J Respir Crit Care Med*. – 2019. – Vol. 200. – P. 175-183.

67. Immunohistochemical localization of transforming growth factor-beta 1 in the nonnecrotizing granulomas of pulmonary sarcoidosis / A.H. Limper, T.V. Colby, M.S. Sanders [et al.] // *Am J Respir Crit Care Med*. – 1994. – Vol. 149(1). – P. 197-204.

68. Incidence and prevalence of idiopathic pulmonary fibrosis / G. Raghu, D. Weycker, J. Edelsberg [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. – 2006. – Vol. 174(7). – P. 810-816. – doi: 10.1164/rccm.200602-163OC.

69. Incidence and prevalence of idiopathic pulmonary fibrosis: review of the literature / L. Nalysnyk, J. Cid-Ruzafa, P. Rotella, D. Esser // *Eur. Respir. Rev*. – 2012. – Vol. 21(126). – P. 355-361. – doi: 10.1183/09059180.00002512.

70. Increased inflammatory cytokines and new collagen formation in cutaneous tuberculosis and sarcoidosis / B.G. Marshall, A. Wangoo, H.T. Cook [et al.] // *Thorax*. – 1996. – Vol. 51. – P. 1253-1261. – doi: 10.1136/thx.51.12.1253.

71. Increasing Hypersensitivity Pneumonitis-related Mortality in the United States from 1988 to 2016 / E.R. Fernandez Perez, D.B. Sprunger, P. Ratanawatkul [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. – 2019. – Vol. 199. – P. 1284-1287. – doi: 10.1164/rccm.201807-1258LE.

72. Inhibition and Role of Let-7d in Idiopathic Pulmonary Fibrosis / K.V. Pandit, D. Corcoran, H. Yousef [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. – 2010. – Vol. 182. – P. 220-229.

73. Interferon-inducible chemokines reflect severity and progression in sarcoidosis / R. Su, M.L.T. Nguyen, M.R. Agarwal [et al.] // *Respiratory research*. – 2013. – Vol. 14(1). – P. 1-9.

74. Invasive diagnostic techniques in idiopathic interstitial pneumonias / V. Poletti, C. Ravaglia, C. Gurioli [et al.] // *Respirology*. – 2016. – Vol. 21. – P. 44-50.
75. Kang, H. Role of microRNAs in TGF- $\beta$  signaling pathway-mediated pulmonary fibrosis / H. Kang // *International journal of molecular sciences*. – 2017. – Vol. 18(12). – P. 2527.
76. Kirkil, G. Predictors of mortality in pulmonary sarcoidosis / G. Kirkil, E.E. Lower, R.P. Baughman // *Chest*. – 2018. – Vol. 153. – P. 105-113.
77. Kolb, M. The natural history of progressive fibrosing interstitial lung diseases / M. Kolb, M. Vašáková // *Respiratory research*. – 2019. – Vol. 20(1). – P. 57.
78. Krol, J. The widespread regulation of microRNA biogenesis, function and decay / J. Krol, I. Loedige, W. Filipowicz // *Nature Reviews Genetics*. – 2010. – Vol. 11(9). – P. 597-610.
79. LGP2 virus sensor enhances apoptosis by upregulating apoptosis regulatory genes through TRBP-bound miRNAs during viral infection / T. Takahashi, Y. Nakano, K. Onomoto [et al.] // *Nucleic Acids Res*. – 2020. – Vol. 48(3). – P. 1494-1507. – doi: 10.1093/nar/gkz1143.
80. Ligustrazin increases lung cell autophagy and ameliorates paraquat-induced pulmonary fibrosis by inhibiting PI3K/Akt/mTOR and hedgehog signalling via increasing miR-193a expression / M.W. Liu, M.X. Su, D.Y. Tang [et al.] // *BMC Pulm Med*. – 2019. – Vol. 19(1). – P. 35.
81. lncRNA PFAL promotes lung fibrosis through CTGF by competitively binding miR-18a / X. Li, T. Yu, H. Shan [et al.] // *FASEB J*. – 2018. – Vol. 32(10). – P. 5285-5297. – doi: 10.1096/fj.201800055R.
82. Lung Fibroblasts Express a MiR-19a-19b-20a Sub-Cluster to Suppress TGF- $\beta$ -Associated Fibroblast Activation in Murine Pulmonary Fibrosis / K. Souma, S. Shichino, S. Hashimoto [et al.] // *Sci. Rep*. – 2018. – Vol. 8. – P. 16642.
83. Matsushima, S. MicroRNA-29c Regulates Apoptosis Sensitivity via Modulation of the Cell-Surface Death Receptor, Fas, in Lung Fibroblasts / S. Matsushima, J. Ishiyama // *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol*. – 2016. – Vol. 311. – P. 1050-1061.

84. Measurement of neopterin, TGF-beta1 and ACE in the exhaled breath condensate of patients with sarcoidosis / H. Ahmadzai, B. Cameron, J. Chui [et al.] // *J Breath Res.* – 2013. – Vol. 7(4). – P. 460-463.
85. MicroRNA-101 attenuates pulmonary fibrosis by inhibiting fibroblast proliferation and activation / C. Huang, X. Xiao, Y. Yang [et al.] // *Journal of Biological Chemistry.* – 2017. – Vol. 292(40). – P. 16420-16439.
86. MicroRNA-101 Attenuates Pulmonary Fibrosis by Inhibiting Fibroblast Proliferation and Activation / C. Huang, X. Xiao, Y. Yang [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2017. – Vol. 292. – P. 16420-16439.
87. MicroRNA-142-3p Inhibits Apoptosis and Inflammation Induced by Bleomycin through down-Regulation of Cox-2 in MLE-12 Cells / F. Guo, S.C. Lin, M.S. Zhao [et al.] // *Braz. J. Med. Biol. Res. Rev.* – 2017. – Vol. 50. – P. e5974.
88. MicroRNA-142-3p Inhibits Hypoxia/Reoxygenation-induced Apoptosis and Fibrosis of Cardiomyocytes by Targeting High Mobility Group Box 1 / Y. Wang, M. Ouyang, Q. Wang [et al.] // *Int. J. Mol. Med.* – 2016. – Vol. 38. – P. 1377-1386.
89. MicroRNA-155 Attenuates Profibrotic Effects of Transforming Growth Factor-Beta on Human Lung Fibroblasts / L. Chi, Y. Xiao, L. Zhu [et al.] // *J. Biol. Regul. Homeost. Agents.* – 2019. – Vol. 33. – P. 1415-1424.
90. MicroRNA-155 Is Induced during the Macrophage Inflammatory Response / R.M. O'Connell, K.D. Taganov, M.P. Boldin [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2007. – Vol. 104. – P. 1604-1609.
91. MicroRNA-155 Modulates the Interleukin-1 Signaling Pathway in Activated Human Monocyte-Derived Dendritic Cells / M. Ceppi, P.M. Pereira, I. Dunand-Sauthier [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2009. – Vol. 106. – P. 2735-2740.
92. MicroRNA-29 Family, a Crucial Therapeutic Target for Fibrosis Diseases / Y. He, C. Huang, X. Lin [et al.] // *Biochimie.* – 2013. – Vol. 95. – P. 1355-1359.
93. MicroRNA-29c Prevents Pulmonary Fibrosis by Regulating Epithelial Cell Renewal and Apoptosis / T. Xie, J. Liang, Y. Geng [et al.] // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* – 2017. – Vol. 57. – P. 721-732.

94. MicroRNA-30a Attenuates TGF- $\beta$ 1-Induced Activation of Pulmonary Fibroblast Cell by Targeting FAP- $\alpha$  / G. Wu, B. Xie, C. Lu [et al.] // *J. Cell. Mol. Med.* – 2020. – Vol. 24. – P. 3745-3750.
95. MicroRNA-448 Overexpression Inhibits Fibroblast Proliferation and Collagen Synthesis and Promotes Cell Apoptosis via Targeting ABCC3 through the JNK Signaling Pathway / F. Xu, F. Xu, S. Xie [et al.] // *J. Cell. Physiol.* – 2020. – Vol. 235. – P. 1374-1385.
96. MicroRNAs as biomarkers of active pulmonary tb course / G.S. Shepelkova, V.V. Evstifeev, R.V. Tarasov [et al.] // *Microorganisms.* – 2023. – Vol. 11(3). – P. 626.
97. MicroRNAs in Idiopathic Pulmonary Fibrosis / K.V. Pandit, J. Milosevic, N. Kaminski [et al.] // *Transl. Res.* – 2011. – Vol. 157. – P. 191-199.
98. miR-106b-5p targeting SIX1 inhibits TGF- $\beta$ 1-induced pulmonary fibrosis and epithelial-mesenchymal transition in asthma through regulation of E2F1 / S. Liu, X. Chen, S. Zhang [et al.] // *Int J Mol Med.* – 2021. – Vol. 47(3). – P. 48-55. – doi: 10.3892/ijmm.2021.4857.
99. miR-15a-5p suppresses inflammation and fibrosis of peritoneal mesothelial cells induced by peritoneal dialysis via targeting VEGFA / J. Shang, Q. He, Y. Chen [et al.] // *J Cell Physiol.* – 2019. – Vol. 234(6). – P. 9746-9755.
100. miR-184 targets TP63 to block idiopathic pulmonary fibrosis by inhibiting proliferation and epithelial–mesenchymal transition of airway epithelial cells / J. Li, C. Pan, C. Tang [et al.] // *Laboratory Investigation.* – 2021. – Vol. 101(2). – P. 142-154.
101. MiR-18a-5p Inhibits Sub-Pleural Pulmonary Fibrosis by Targeting TGF- $\beta$  Receptor II. Mol / Q. Zhang, H. Ye, F. Xiang [et al.] // *Ther. J. Am. Soc. Gene Ther.* – 2017. – Vol. 25. – P. 728-738.
102. MiR-200b/c Attenuates Lipopolysaccharide-Induced Early Pulmonary Fibrosis by Targeting ZEB1/2 via P38 MAPK and TGF- $\beta$ /Smad3 Signaling Pathways / Y. Cao, Y. Liu, F. Ping [et al.] // *Lab. Investig. J. Tech. Methods Pathol.* – 2018. – Vol. 98. – P. 339-359.

103. MiR-21 Mediates Fibrogenic Activation of Pulmonary Fibroblasts and Lung Fibrosis / G. Liu, A. Friggeri, Y. Yan [et al.] // *J. Exp. Med.* – 2010. – Vol. 207. – P. 1589-1597.
104. miR-223: an effective regulator of immune cell differentiation and inflammation / P. Jiao, X.P. Wang, Z.M. Luoreng [et al.] // *International Journal of Biological Sciences.* – 2021. – Vol. 17(9). – P. 2308-2322.
105. MiR-27b Inhibits Fibroblast Activation via Targeting TGF $\beta$  Signaling Pathway / X. Zeng, C. Huang, L. Senavirathna [et al.] // *BMC Cell Biol.* – 2017. – Vol. 18(9). – P. 1-7.
106. MiR-29 Is a Major Regulator of Genes Associated with Pulmonary Fibrosis / L. Cushing, P.P. Kuang, J. Qian [et al.] // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* – 2011. – Vol. 45. – P. 287-294.
107. Mir-29 Regulates Mcl-1 Protein Expression and Apoptosis / J.L. Mott, S. Kobayashi, S.F. Bronk [et al.] // *Oncogene.* – 2007. – Vol. 26. – P. 6133-6140.
108. MiR-301a Suppression within Fibroblasts Limits the Progression of Fibrosis through the TSC1/MTOR Pathway / J. Wang, X. Li, M. Zhong [et al.] // *Mol. Ther. Nucleic Acids.* – 2020. – Vol. 21. – P. 217-228.
109. MiR-323a-3p regulates lung fibrosis by targeting multiple profibrotic pathways / L. Ge, D.M. Habel, P.M. Hansbro [et al.] // *JCI insight.* – 2016. – Vol. 1(20). – P. e90301.
110. MiR-340-5p Mitigates the Proliferation and Activation of Fibroblast in Lung Fibrosis by Targeting TGF- $\beta$ /P38/ATF1 Signaling Pathway / Y.-Q. Wei, Y.-F. Guo, S.-M. Yang [et al.] // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* – 2020. – Vol. 24. – P. 6252-6261.
111. MiR-448 Is a Novel Prognostic Factor of Lung Squamous Cell Carcinoma and Regulates Cells Growth and Metastasis by Targeting DCLK1 / C. Shan, F. Fei, F. Li [et al.] // *Biomed. Pharmacother.* – 2017. – Vol. 89. – P. 1227-1234.
112. Molecular Pathogenesis Involved in Human Idiopathic Pulmonary Fibrosis Based on an Integrated MicroRNA-MRNA Interaction Network / L. Wang, W. Huang, L. Zhang [et al.] // *Mol. Med. Rep.* – 2018. – Vol. 18. – P. 4365-4373.

113. Nintedanib in progressive fibrosing interstitial lung diseases / K.R. Flaherty, A.U. Wells, V. Cottin [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2019. – Vol. 381(18). – P. 1718-1727. – doi: 10.1056/NEJMoa1908681.

114. Nonspecific interstitial pneumonia and idiopathic pulmonary fibrosis: changes in pattern and distribution of disease over time / C.I.S. Silva, N.L. Muller, D.M. Hansell [et al.] // *Radiology.* – 2008. – Vol. 247(1). – P. 251-259.

115. Novel Form of MiR-29b Suppresses Bleomycin-Induced Pulmonary Fibrosis / Y. Yamada, M. Takanashi, K. Sudo [et al.] // *PLoS ONE.* – 2017. – Vol. 12. – P. e0171957.

116. Oxidative Stress in Pulmonary Fibrosis: A Possible Role for Redox Modulatory Therapy / V.L. Kinnula, C.L. Fattman, R.J. Tan [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2005. – Vol. 172. – P. 417-422.

117. Pandit, K.V. MicroRNA Regulatory Networks in Idiopathic Pulmonary Fibrosis / K.V. Pandit, J. Milosevic // *Biochem. Cell Biol. Biochim. Biol. Cell.* – 2015. – Vol. 93. – P. 129-137.

118. Participation of MiR-200 in Pulmonary Fibrosis / S. Yang, S. Banerjee, A. de Freitas [et al.] // *Am. J. Pathol.* – 2012. – Vol. 180. – P. 484-493.

119. Patterson, K.C. The pathogenesis of pulmonary sarcoidosis and implications for treatment / K.C. Patterson, E.S. Chen // *Chest.* – 2018. – Vol. 153. – P. 1432-1442. – doi: 10.1016/j.chest.2017.11.030.

120. Pillai, R.S. Repression of protein synthesis by miRNAs: how many mechanisms? / R.S. Pillai, S.N. Bhattacharyya, W. Filipowicz // *Trends in cell biology.* – 2007. – Vol. 17(3). – P. 118-126.

121. Pirfenidone in patients with progressive fibrotic interstitial lung diseases other than idiopathic pulmonary fibrosis (RELIEF): a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 2b trial / J. Behr, A. Prasse, M. Kreuter [et al.] // *The Lancet Respiratory Medicine.* – 2021. – Vol. 9(5). – P. 476-486.

122. Pirfenidone in patients with unclassifiable progressive fibrosing interstitial lung disease: a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 2 trial / T.M. Maher,

T.J. Corte, A. Fischer [et al.] // *The Lancet Respiratory Medicine*. – 2020. – Vol. 8(2). – P. 147-157.

123. Poletti, V. Diagnostic invasive procedures in diffuse infiltrative lung diseases / V. Poletti, M. Chilosi, D. Olivieri // *Respiration*. – 2004. – Vol. 71. – P. 107-119.

124. Precipitins against extracts of hay and moulds in the serum of patients with farmer's lung, aspergillosis, asthma, and sarcoidosis / J. Pepys, R.W. Riddell, K.M. Citron [et al.] // *Thorax*. – 1962. – Vol. 17. – P. 366-374.

125. Presentation, diagnosis and clinical course of the spectrum of progressive-fibrosing interstitial lung diseases / V. Cottin, N.A. Hirani, D.L. Hotchkin [et al.] // *European Respiratory Review*. – 2018. – Vol. 27(150). – P. 180.

126. Prevalence and characteristics of progressive fibrosing interstitial lung disease in a prospective registry / N. Hambly, M.M. Farooqi, A. Dvorkin-gheva [et al.] // *Eur Respir J*. – 2022. – Vol. 60(4). – P. 210-257.

127. Prevalence and prognosis of unclassifiable interstitial lung disease / C.J. Ryerson, T.H. Urbania, L. Richeldi [et al.] // *European Respiratory Journal*. – 2014. – Vol. 43(5). – P. 1529-1530.

128. Proangiogenic and profibrotic markers in pulmonary sarcoidosis / I. Tuleta, L. Biener, C. Pizarro [et al.] // *Clinical Pulmonary Research*. – 2018. – Vol. 114. – P. 57-66.

129. Progressive pulmonary sarcoidosis – a fibroproliferative process potentially triggered by EGR-1 and IL-6 / M.P. Bihl, K. Laule-Kilian, L. Bubendorf [et al.] // *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis*. – 2006. – Vol. 23. – P. 38-50.

130. Qiu, M. Risk factors for acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis: a systematic review and meta-analysis / M. Qiu, Y. Chen, Q. Ye // *Clin Respir J*. – 2017. – Vol. 12(3). – P. 1084-1092.

131. Racial difference in sarcoidosis mortality in the United States / M. Mirsaiedi, R.F. Machado, D. Schraufnagel [et al.] // *Chest*. – 2015. – Vol. 147. – P. 438-449.

132. Registration of interstitial lung diseases by 20 centres of respiratory medicine in Flanders / M. Thomeer, M. Demedts, K. Vandeurzen [et al.] // *Acta. Clin. Belg.* – 2001. – Vol. 56(3). – P. 163-172.
133. Riario Sforza, G.G. Hypersensitivity pneumonitis: a complex lung disease / G.G. Riario Sforza, A. Marinou // *Clinical and Molecular Allergy.* – 2017. – Vol. 15(1). – P. 6.
134. Sarcoidosis and IPF in the same patient-a coincidence, an association or a phenotype? / B.F. Collins, R.L. McClelland, L.A. Ho [et al.] // *Respiratory medicine.* – 2018. – Vol. 144. – P. S20-S27.
135. Sarcoidosis in America. Analysis based on health care use / R.P. Baughman, S. Field, U. Costabel // *Ann. Am. Thorac. Soc.* – 2016. – Vol. 13(8). – P. 1244-1252.
136. Sarcoidosis is a Th1/Th17 multisystem disorder / M. Facco, A. Cabrelle, A. Teramo [et al.] // *Thorax.* – 2010. – Vol. 2010. – P. 140-319.
137. Sarcoidosis: TNF-alpha release from alveolar macrophages and serum level of sIL-2R are prognostic markers / M.W. Ziegenhagen, U.K. Benner, G. Zissel [et al.] // *Am J Respir Crit Care Med.* – 1997. – Vol. 156(5). – P. 1586-1592.
138. Sarcoidosis-related mortality in the United States from 1988 to 2007 / J.J. Swigris, A.L. Olson, T.J. Huie [et al.] // *Am J Respir Crit Care Med.* – 2011. – Vol. 183. – P. 1524-1530.
139. Selman, M. Immunopathology, diagnosis, and management of hypersensitivity pneumonitis / M. Selman, I. Buendía-Roldán // *Semin Respir Crit Care Med.* – 2012. – Vol. 33. – P. 543-554.
140. Serial CT analysis in idiopathic pulmonary fibrosis: comparison of visual features that determine patient outcome / J. Jacob, L. Aksman, N. Mogulkoc [et al.] // *Thorax.* – 2020. – Vol. 75(8). – P. 648-654.
141. Series ATS/ERS task force: Standardisation of lung function testing / V. Brusasco, R. Crapo, G. Viegi [et al.] // *Eur respir J.* – 2005. – Vol. 26(2). – P. 319-338.
142. Standardization of Lung Function Tests. Report Working Party European Community for Steel and Coal. Official statement of European Respiratory Society / P.H.

Quanjer, G.J. Tammeling, J.E. Cotes [et al.] // *Eur. Respir. J.* – 1993. – Vol. 6(16). – P. 85-100.

143. Sun, Y. MiR-506: A Multitasker in Suppression of the Epithelial-to-Mesenchymal Transition / Y. Sun, D. Mezzanzanica, W. Zhang // *RNA Dis. Houst. Tex.* – 2014. – Vol. 1(32). – P. e447.

144. Systemic sarcoidosis associated with exposure to *Borrelia burgdorferi* in a 21-Year-Old Man / L. Van Dee, M. Stehouwer, T. // *Eur. van Bommel J. Case. Rep. Intern. Med.* – 2018. – Vol. 5(10). – P. 942. – doi: 10.12890/2018\_000942.

145. Terwiel, M. Clinical epidemiology of familial sarcoidosis: A systematic literature review / M. Terwiel, C.H.M. van Moorsel // *Respir Med.* – 2018. – Vol. 149. – P. 36-41.

146. Thannickal, V.J. Evolving Concepts of Apoptosis in Idiopathic Pulmonary Fibrosis / V.J. Thannickal, J.C. Horowitz // *Proc. Am. Thorac. Soc.* – 2006. – Vol. 3. – P. 350-356.

147. The epidemiology of interstitial lung diseases / D.B. Coultas, R.E. Zumwalt, W.C. Black, R.E. Sobonya // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 1994. – Vol. 150(4). – P. 967-972. – doi: 10.1164/ajrccm.150.4.7921471.

148. The natural history of progressive fibrosing interstitial lung diseases / K.K. Brown, F.J. Martinez, S.L.F. Walsh [et al.] // *Eur. Respir. J.* – 2020. – Vol. 55(6). – P. 20-85. – doi: 10.1183/13993003.00085-2020.

149. The Plasma Levels of hsa-miR-19b-3p, hsa-miR-125b-5p, and hsamiR-320c in Patients with Asthma, COPD and Asthma-COPD Overlap Syndrome (ACOS) / R. Bersimbaev, A. Aripova, O. Bulgakova [et al.] // *Microna.* – 2021. – Vol. 10(2). – P. 130-138.

150. Transcriptional Regulatory Model of Fibrosis Progression in the Human Lung / J.E. McDonough, F. Ahangari, Q. Li [et al.] // *JCI Insight.* – 2019. – Vol. 4(32). – P. 131-159.

151. Transforming Growth Factor (TGF)- $\beta$ 1-Induced MiR-133a Inhibits Myofibroblast Differentiation and Pulmonary Fibrosis / P. Wei, Y. Xie, P.W. Abel [et al.] // *Cell Death Dis.* – 2019. – Vol. 10. – P. 670.

152. Transforming growth factor-beta1 in sarcoidosis / F. Salez, P. Gosset, M.C. Copin [et al.] // *European Respiratory Journal*. – 1998. – Vol. 12(4). – P. 913-919.
153. Transforming growth factor- $\beta$  gene polymorphisms in different phenotypes of sarcoidosis / S. Pabst, T. Fränken, J. Schönau [et al.] // *Eur Respir J*. – 2011. – Vol. 38. – P. 169-175. – doi: 10.1183/09031936.00120410.
154. Transgenic Over-Expression of the MicroRNA MiR-17-92 Cluster Promotes Proliferation and Inhibits Differentiation of Lung Epithelial Progenitor Cells / Y. Lu, J.M. Thomson, H.Y. Wong [et al.] // *Dev. Biol.* – 2007. – Vol. 310. – P. 442-453.
155. Unravelling the Complexities of the NF-KappaB Signalling Pathway Using Mouse Knockout and Transgenic Models / S. Gerondakis, R. Grumont, R. Gugasyan [et al.] // *Oncogene*. – 2006. – Vol. 25. – P. 6781-6799.
156. Wijsenbeek, M. Spectrum of fibrotic lung diseases / M. Wijsenbeek, V. Cottin // *N. Engl. J. Med.* – 2020. – Vol. 383(10). – P. 958-968. – doi: 10.1056/NEJMra2005230.
157. Yamada, M. Extracellular vesicles: Their emerging roles in the pathogenesis of respiratory diseases / M. Yamada // *Respir Investig.* – 2021. – Vol. 59(3). – P. 302-311. – doi: 10.1016/j.resinv.2021.02.006.