

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ БИОМАРКЕРЫ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ ФИБРОЗА ЛЕГКИХ ПРИ ИНТЕРСТИЦИАЛЬНЫХ ЛЕГОЧНЫХ БОЛЕЗНЯХ

Лукашевич А.А., Юдина О.А.

*Белорусский государственный медицинский университет (Минск, Беларусь)*

**Актуальность.** Большая часть заболеваний из группы интерстициальных легочных болезней (ИЛБ) характеризуется прогрессирующим фиброзом легкого. В 2023г Европейским респираторным обществом принят термин «прогрессирующий фиброзирующий фенотип (ПФ-ИЛБ)», обозначающий ИЛБ с рентгенологическими признаками фиброза и доказательствами прогрессирования с течением времени [1]. Появление эффективных антифибротических препаратов (Нинтеданиб [2] и Пирфенидон [3]), ухудшение состояния несмотря на проводимую противовоспалительную терапию [4], возможность постановки в лист ожидания трансплантации легких [5] определяют необходимость выделения группы пациентов с ПФ-ИЛБ для персонифицированной медицинской помощи.

Текущее понимание патогенеза ПФ-ИЛБ ограничено. Морфологически данная группа заболеваний характеризуется различными комбинациями фибротических и воспалительных изменений легочной ткани [1]. Уточнение характеристик ремоделирования ткани легкого при ИЛБ, исследование иммуногистохимических (ИГХ) биомаркеров воспаления и фиброгенеза представляются важным для оценки прогнозирования прогрессирования пневмофиброза.

**Материалы и методы.** Материалом для исследования послужили биопсии легкого 80 пациентов, имеющие морфологические признаки пневмофиброза, при установленном диагнозе ИЛБ. Возраст пациентов составил 28-73 года, средний возраст  $50,6 \pm 10,7$  лет. Для оценки прогрессии фиброза легкого последующий период наблюдения за каждым пациентом составлял минимум 2 года (максимум до 9 лет), обследование проводилось в полном объеме с оценкой динамики заболевания, результатов лечения, сопоставлении клинических, рентгенологических и морфологических данных. Из исследования были исключены пациенты с системными заболеваниями соединительной ткани, проявлениями лекарственной токсичности, лучевого фиброза и новообразованиями легкого.

Признаками прогрессирования являлись: 1) снижение форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ) на  $\geq 10\%$  от должного значения; 2) снижение ФЖЕЛ от 5% до  $< 10\%$  от должного значения в совокупности с ухудшением респираторных симптомов или увеличением степени фиброза легких по данным компьютерной томографии высокого разрешения; 3) ухудшение респираторных симптомов и увеличение степени фиброза легких по данным компьютерной томографии высокого разрешения. В зависимости от наличия признаков прогрессирования пневмофиброза пациенты были разделены на две группы: с ПФ-ИЛБ ( $n=42, 58,0\%$ ) и не-ПФ-ИЛБ ( $n=38, 42,0\%$ ).

Для анализа морфологических характеристик фиброза легких были пересмотрены отобранные микропрепараты, окрашенные гематоксилином и эозином и по Массону на микроскопе Leica DM 2500 в проходящем свете. Для ИГХ исследования использовали кроличьи моноклональные антитела к TNF- $\alpha$ , CTGF и TGF- $\beta 1$ . Гистологические препараты были оцифрованы автоматизированной системой для сканирования препаратов Motic EasyScan Pro 6 (Китай), с разрешением до 400 крат. Микрофотографии (7-10 репрезентативных полей зрения) гистологических срезов импортировали в среду компьютерной программы Aperio Image Scope v12.4.3.5008 для количественной оценки занимаемой площади и распределения пневмофиброза при окраске по Массону и результатов ИГХ исследования. Оценен ряд показателей в

максимально возможном количестве полей зрения по стандартному алгоритму подсчёта позитивных пикселей «Positive Pixel Count v9». Рассчитаны средняя интенсивность всех пикселей, позитивность экспрессии (общее количество позитивных пикселей, поделенное на общее количество пикселей).

Статистическая обработка данных осуществляли с использованием пакета статистического анализа данных MedCalc (MedCalc Software, Бельгия). Для проверки гипотезы нормальности распределения данных использовали критерий Шапиро-Уилка. Сравнение показателей между двумя независимыми группами проводили путем расчета U-критерия Манна-Уитни. Для суждения о взаимосвязи между показателями вычисляли коэффициент корреляции Спирмена. Диагностическую информативность лабораторных тестов оценивали на основе эффективности, чувствительности, специфичности, площади под ROC-кривой. Критическое значение уровня значимости принимали как равное 5%.

**Результаты и их обсуждения.** В результате морфометрического исследования биоптатов пациентов с ПФ-ИЛБ и не-ПФ-ИЛБ, окрашенных по Массону, случаи были распределены по группам в зависимости от величины площади фиброза. Количество пациентов с минимально выраженными фибротическими изменениями в легочном интерстиции были представлены 15 случаями в группе с ПФ-ИЛБ и 5 случаями в группе не-ПФ-ИЛБ. Слабо выраженные изменения имели 12 пациентов в группе ПФ-ИЛБ и 9 пациентов в группе не-ПФ-ИЛБ, умеренно выраженные изменения - 12 пациентов в группе ПФ-ИЛБ и 9 пациентов в группе не-ПФ-ИЛБ, выраженные изменения - в группе ПФ-ИЛБ - 3 случая, не-ПФ-ИЛБ - 9 случаев. Анализ частоты встречаемости фибротических изменений легочного интерстиция по площади не выявил различий в исследуемых группах ( $p > 0,05$ ).

В результате морфологического исследования биоптатов легких пациентов с ИЛБ, окрашенных по Массону были выделены 3 группы: очаговый фиброз (периваскулярный и/или перибронхиальный), фиброз с гетерогенной альвеолярной архитектурой (чередование фибротически измененных участков с интактной легочной тканью), диффузный фиброз (более половины поля зрения на малом увеличении). Количество пациентов с очаговым фиброзом были представлены 2 случаями в группе с ПФ-ИЛБ и 15 случаями в группе не-ПФ-ИЛБ. Фиброз с гетерогенной альвеолярной архитектурой имели 22 пациента в группе ПФ-ИЛБ и 10 пациентов в группе не-ПФ-ИЛБ. Диффузный фиброз имели 18 пациентов в группе ПФ-ИЛБ и 13 пациентов в группе не-ПФ-ИЛБ. Анализ частоты встречаемости фибротических изменений легочного интерстиция различного распределения выявил различия в исследуемых группах ( $p < 0,05$ ).

Оценка тесноты корреляционной связи показала, что между прогрессией и распределением фиброза легких существует слабая и прямая связь:  $r = 0,261$  ( $p < 0,001$ ), между прогрессией фиброза и площадью фиброза достоверной связи не обнаружено.

Анализ результатов ИГХ исследования свидетельствует о различном характере экспрессии TNF- $\alpha$ , CTGF и TGF- $\beta 1$  в группах пациентов с ПФ-ИЛБ и не-ПФ-ИЛБ (таблица 1).

**Таблица 1.**

**Распределение по позитивности экспрессии TNF- $\alpha$ , CTGF и TGF- $\beta 1$  в группах пациентов с ПФ-ИЛБ и не-ПФ-ИЛБ**

Хар-ки экспрессии белков	Случаи ПФ-ИЛБ	Случаи не-ПФ ИЛБ	p
Позитивность TNF- $\alpha$	0,21 (0,14-0,28)	0,24 (0,11-0,34)	< 0,001

Позитивность CTGF	0,56 (0,50-0,65)	0,42 (0,29-0,58)	< 0,001
Позитивность TGF-β1	0,51 (0,42-0,64)	0,30 (0,18-0,42)	< 0,001
Интенсивность TNF-α	137,58(128,07-145,43)	147,05 (137,66-158,72)	0,421
Интенсивность CTGF	121,19 (114,44-121,69)	130,55 (123,48-140,08)	< 0,001
Интенсивность TGF-β1	133,04 (123,16-142,92)	142,54 (133,57-154,08)	0,003

**Примечание:** значения приведены в виде среднего значения и интерквартильного интервала (25% и 75% процентиля).

Результаты корреляционного анализа выявили умеренную положительную связь позитивности экспрессии белков CTGF и TGF-β1 с прогрессированием фиброза легких:  $r = 0,527$  ( $p = 0,001$ ) для CTGF;  $r = 0,309$  ( $p = 0,005$ ) для TGF-β1.

Обнаруженная взаимосвязь дала основание включить показатели морфологического и ИГХ исследований в ROC-анализ. Эффективность каждого отдельного параметра для прогнозирования прогрессирования фиброза легких у пациентов с ИЛБ, рассчитанная на основе их чувствительности и специфичности, находилась в пределах от 61,6% до 78,6% (таблица 2). Каждый из этих параметров характеризовался достаточно высокой прогностической значимостью, о чем свидетельствует площадь под ROC-кривой, которая находилась в пределах от 0,552 до 0,827.

**Таблица 2.**

**Характеристики ROC-кривых для морфологических и ИГХ характеристик биоптатов легких при прогнозировании прогрессирования фиброза легких у пациентов с ИЛБ**

Показатель	ПЗ	Чувств. (95% ДИ)	Специф. (95% ДИ)	Эфф.	AUC (95% ДИ)	p (vs AUC = 0,5)	ИЮ
РФ	>1	95,2 (83,8-99,4)	39,5 (24,0-56,6)	67,4	0,640 (0,766 - 0,920)	0,020	0,347
П-ть TNF-α	≤0,295	81,0 (65,9-91,4)	42,1 (26,3-52,4)	61,6	0,552 (0,437 - 0,664)	0,440	0,231
П-ть CTGF	>0,484	83,3 (68,6-93,0)	65,8 (48,6-80,4)	74,6	0,733 (0,623 - 0,826)	<0,001	0,491
П-ть TGF-β1	>0,412	81,0 (65,9-91,4)	76,3 (59,8-88,6)	78,6	0,827 (0,727 - 0,903)	<0,001	0,573
Инт. TNF-α	≤148,3	92,9 (80,5-98,5)	55,3 (38,3-71,4)	74,1	0,713 (0,601 - 0,809)	<0,001	0,481
Инт. CTGF	>122,0	73,7 (63,2-84,6)	78,9 (62,7-90,4)	76,3	0,717 (0,605 - 0,812)	<0,001	0,512
Инт. TGF-β1	>131,7	81,0 (65,9-91,4)	62,3 (46,0-78,2)	71,7	0,691 (0,578 - 0,790)	0,002	0,441

**Примечание:** ИЮ – индекс Юдена; ПЗ – пороговое значение; Чувств. – чувствительность; Специф. – специфичность; Эфф. – эффективность; ДИ – доверительный интервал; AUC – площадь под ROC-кривой; p (vs AUC = 0,5) – уровень значимости, при котором оцениваемая площадь под ROC-кривой статистически значимо отличается от неинформативного значения 0,5; РФ – распределение фиброза; П-ть – позитивность; Инт. – интенсивность.

**Выводы.** Наибольшую чувствительность (81,0), специфичность (76,3), эффективность (78,6) и площадь под ROC-кривой (0,827) в качестве биомаркера прогрессирования фиброза легких при ИЛБ имел показатель позитивности экспрессии TGF- $\beta$ 1.

Применение комплексного морфологического исследования с использованием ИГХ способствует выявлению ИЛБ с вероятным прогрессирующим типом фиброза легких на этапе первичной диагностики и позволяет персонифицировать тактику ведения пациента.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Rajan S.K., Cottin V., Dhar R. [et al.] // Eur. Respir J. – 2023. – Vol. 61, № 3 (2103187). – P. 1–19.
2. Ghazipura M., Mammen H. T., Bissell M. J. B. [et al.] // Ann. Am. Thorac. Soc. – 2022. – Vol. 19, № 6. – P. 1030–1039.
3. Ghazipura M., Mammen H. M., Herman M. J. D. D. [et al.] // Ann. Am. Thorac. Soc. – 2022. – Vol. 19, № 6. – P. 1040–1049.
4. Wijsenbeek M., Cottin V. // N. Engl. J. Med. – 2020. – Vol. 383. – P. 958–968.
5. Ерохов В.В., Котов М.В., Качук М.В. [и др.] // Хирургия Беларуси – состояние и развитие: науч.-практ. конф. с междунар. участием; XVII Съезд хирургов Республики Беларусь, Могилев, 2023 г.



**РМАНПО**

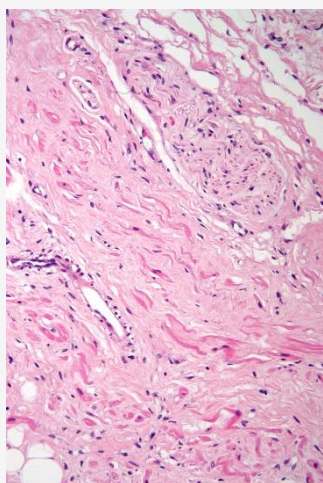
**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН  
ЦЕНТР РАЗВИТИЯ ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ КВАЛИФИКАЦИИ МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ**



**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
РОССИЙСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ НЕПРЕРЫВНОГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО  
ОБРАЗОВАНИЯ**

**СБОРНИК**  
**тезисов докладов международной научно-**  
**практической on-line конференции**  
**«АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ**  
**ПАТОЛОГИЧЕСКОЙ АНАТОМИИ»**

**15 мая 2025 года**



**Ташкент - 2025**