



НЕИНВАЗИВНАЯ ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ПАНЕЛЬ НА ОСНОВЕ СЛЮННЫХ БИОМАРКЕРОВ ПРИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ И ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЁГКИХ

Н.Абдулхамидова

Бухарский областной многопрофильный медицинский центр,
Бухара, Республика Узбекистан
<https://doi.org/10.5281/zenodo.19550484>

Цель исследования. Сравнительно оценить иммунобиохимические и физико-химические показатели слюны при бронхиальной астме и хронической обструктивной болезни лёгких (ХОБЛ), а также определить диагностическую эффективность интегральной панели IL-6+IL-8+ECP+pH.

Ключевые слова. слюнные биомаркеры; бронхиальная астма; ХОБЛ; эозинофильный катионный белок; IL-6; IL-8; pH; неинвазивная диагностика

Purpose of the study. Comparative assessment of immunobiochemical and physicochemical saliva parameters in bronchial asthma and chronic obstructive pulmonary disease (COPD), as well as determination of the diagnostic effectiveness of the IL-6+IL-8+ECP+pH integrated panel.

Keywords: *salivary biomarkers; bronchial asthma; COPD; eosinophilic cationic protein; IL-6; IL-8; non-invasive diagnosis*

Tadqiqotning maqsadi. Bronxial astma va o'pkaning surunkali obstruktiv kasalligida (O'SOK) so'lakning immunobiokimyoviy va fizik-kimyoviy ko'rsatkichlarini qiyosiy baholash hamda IL-6+IL-8+ECP+pH integral panelining diagnostik samaradorligini aniqlash.

Kalit so'zlar: so'lak biomarkerlari; bronxial astma; O'SOK; эозинофил катион оқсил; IL-6; IL-8; pH; noinvaziv diagnostika

Материалы и методы. В публикационный анализ включены данные результативной части диссертации, представленные для трёх наиболее клинически контрастных групп: здоровый контроль (n=20), бронхиальная астма (n=30) и ХОБЛ (n=25). Сбор нестимулированной и стимулированной слюны проводили в утренние часы по стандартизованному протоколу. Уровни IL-6, IL-8, IL-10, IL-17A и IFN-γ определяли методом мультиплексного иммунного анализа; эозинофильный катионный белок (ECP), лизоцим и лактоферрин — методом ELISA. Дополнительно оценивали pH, скорость слюноотделения, относительную вязкость и активность α-амилазы. Статистическая обработка включала U-критерий Манна—Уитни, однофакторный дисперсионный анализ, логистическую регрессию и ROC-анализ.

Результаты. При бронхиальной астме зарегистрированы более высокие значения IL-6, IL-8, IL-10 и ECP; уровень ECP достигал 700±200 мкг/л, IL-8 — 3000±800 пг/мл. Для ХОБЛ были характерны более высокие значения IL-17A и IFN-γ, а также увеличение лизоцима и лактоферрина. В обеих клинических группах отмечены снижение pH, уменьшение базального слюноотделения и рост относительной вязкости, причём эти изменения были глубже при ХОБЛ. Интегральная модель IL-6+IL-8+ECP+pH продемонстрировала высокую диагностическую точность: AUC=0,93±0,03, чувствительность 88%, специфичность 90%.

Заключение. Комплексный профиль слюны позволяет разграничивать различные фенотипы респираторного воспаления и обладает практической ценностью для неинвазивной дифференциальной диагностики бронхиальной астмы и ХОБЛ.

Введение Заболевания дыхательной системы сохраняют значимую медико-социальную нагрузку, а фенотипическая неоднородность воспаления затрудняет раннюю стратификацию пациентов. Бронхиальная астма и хроническая обструктивная болезнь лёгких нередко проявляются сходными клиническими симптомами, однако их иммунопатогенетическая основа различается. По этой причине сохраняется потребность в доступных и воспроизводимых маркерах, пригодных не только для диагностики, но и для повторного динамического контроля.

Традиционные биологические среды, применяемые для оценки воспаления дыхательных путей, информативны, однако имеют ограничения. Забор крови, мокроты и тем более бронхоальвеолярного материала либо инвазивен, либо нестабилен в преданалитическом отношении, либо плохо подходит для частого мониторинга. На этом фоне слюна представляет особый интерес, поскольку объединяет сигналы локального и системного воспаления, состояния секреторной функции слюнных желёз и характеристик муцинового барьера.

В результативной части диссертации показано, что слюна содержит разноуровневую сигнатуру респираторного воспаления: цитокиновый профиль отражает тип иммунного ответа, ECP — эозинофильную активность, лизоцим и лактоферрин — вклад врождённой антибактериальной защиты, а pH, объём секреции и вязкость — состояние секреторного и барьерного блока. Однако практическая ценность этих параметров возрастает не при изолированном, а при интегральном анализе.

Цель исследования состояла в сравнительной оценке иммунобиохимических и физико-химических показателей слюны при бронхиальной астме и ХОБЛ, а также в определении диагностической эффективности панели IL-6+IL-8+ECP+pH на основании данных диссертационного исследования.

Материалы и методы Дизайн исследования и выборка

Работа выполнена в формате публикационного анализа данных, представленных в результативной части диссертации. В анализ включены три группы, использованные в сравнительных таблицах диссертации: здоровый контроль (n=20), пациенты с бронхиальной астмой (n=30) и пациенты с ХОБЛ (n=25). Такой формат позволил сосредоточиться на наиболее клинически контрастных фенотипах респираторного воспаления. Исходное исследование имело сравнительный поперечный дизайн и выполнялось на базе Бухарского областного многопрофильного медицинского центра.

Критерии включения и исключения

В базовую диссертационную выборку включали взрослых 18–65 лет, способных соблюдать преданалитические ограничения и выполнить спирометрию. Для клинических групп требовалась верификация диагноза по действующим критериям; для контрольной группы — отсутствие хронической патологии дыхательной системы и нормальные показатели спирометрии. Из исследования исключали активных курильщиков, лиц с приёмом системных глюкокортикостероидов или антибиотиков в предшествующие 4 недели, пациентов с выраженной пародонтальной патологией,

декомпенсированным сахарным диабетом, недавней острой респираторной инфекцией, беременностью и онкологией головы и шеи.

Сбор материала и лабораторные методы

Слюну собирали в утренние часы до 10:00. Перед визитом соблюдали стандартный преданалитический режим: воздержание от пищи и напитков не менее 90 минут, исключение жевательной резинки, ополаскивателей и чистки зубов утром. Нестимулированную цельную слюну получали в течение 5 минут методом сплёвывания; затем собирали стимулированный образец после жевательной стимуляции парафином в течение 2–3 минут. pH свежих образцов измеряли микроэлектродом немедленно и повторно после 15-минутной экспозиции. После охлаждаемого центрифугирования при +4 °C надосадок алиquotировали и хранили при –80 °C. IL-6, IL-8, IL-10, IL-17A и IFN- γ определяли методом мультиплексного иммунного анализа; ECP, лизоцим и лактоферрин — методом ELISA; α -амилазу — колориметрически; относительную вязкость — капиллярным методом; скорость слюноотделения — по отношению объёма к времени.

Статистический анализ

Нормальность распределения проверяли критерием Шапиро—Уилка. Для межгрупповых сравнений применяли U-критерий Манна—Уитни и однофакторный дисперсионный анализ. Для оценки диагностической эффективности интегральной панели использовали логистическую регрессию и ROC-анализ с расчётом площади под кривой (AUC), чувствительности, специфичности и доверительного интервала. Корреляционные связи клинико-функциональных и слюнных показателей анализировали коэффициентом Спирмена. Уровень статистической значимости принимали равным $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Иммунобиохимический профиль

Сравнительный анализ показал, что бронхиальная астма и ХОБЛ формируют различные слюнные профили воспаления. Для бронхиальной астмы были характерны более высокие концентрации IL-6, IL-8, IL-10 и ECP по сравнению с контролем. Наиболее выраженные различия касались IL-8 и ECP: IL-8 достигал 3000 ± 800 пг/мл против 1000 ± 400 пг/мл в контроле, а ECP — 700 ± 200 мкг/л против 350 ± 100 мкг/л. Для ХОБЛ, напротив, типичными оказались более высокие значения IL-17A и IFN- γ при отсутствии прироста ECP, что указывало на иную иммуновоспалительную конфигурацию.

Повышение IL-10 в группе бронхиальной астмы при относительно умеренных значениях IL-17A соответствовало сочетанию активного эозинофильного воспаления и сохранённого регуляторного ответа. При ХОБЛ наблюдалось увеличение IL-17A до $12,0 \pm 5,0$ пг/мл и IFN- γ до $6,0 \pm 3,0$ пг/мл, что согласуется с Th1/Th17-ориентированным и преимущественно нейтрофильным вариантом воспаления.

Таблица 1. Основные медиаторы воспаления в слюне ($M \pm m$)

Показатель	Контроль (n=20)	Бронхиальная астма (n=30)	p	ХОБЛ (n=25)	p
IL-6, пг/мл	$5,0 \pm 2,0$	$12,0 \pm 4,0$	$<0,01$	$8,0 \pm 3,0$	$<0,05$
IL-8, пг/мл	1000 ± 400	3000 ± 800	$<0,001$	1800 ± 600	$<0,05$
IL-10, пг/мл	$16,0 \pm 5,0$	$25,0 \pm 6,0$	$<0,01$	$15,0 \pm 5,0$	$>0,5$
IL-17A, пг/мл	$5,0 \pm 2,0$	$7,0 \pm 3,0$	$>0,1$	$12,0 \pm 5,0$	$<0,01$

IFN- γ , пг/мл	2,0 \pm 1,0	4,0 \pm 2,0	<0,05	6,0 \pm 3,0	<0,01
ЕСР, мкг/л	350 \pm 100	700 \pm 200	<0,01	320 \pm 100	>0,5

Примечание. р — уровень значимости различий по сравнению с контрольной группой.

Представлены средние значения и вариабельность ключевых провоспалительных и регуляторных цитокинов слюны в исследуемых группах. Отмечено увеличение IL-6, IL-8 и ЕСР у пациентов с респираторной патологией по сравнению с контролем, с различиями по типу воспалительного ответа.

Физико-химический профиль и показатели врождённой защиты

Во всех клинических группах отмечено смещение физико-химического блока по сравнению с контролем, однако при ХОБЛ оно было более выраженным. Значение рН снижалось с 7,10 \pm 0,15 в контроле до 6,70 \pm 0,20 при бронхиальной астме и до 6,50 \pm 0,25 при ХОБЛ. Нестимулированное слюноотделение уменьшалось с 0,30 \pm 0,05 до 0,22 \pm 0,04 и 0,18 \pm 0,05 мл/мин соответственно. Различия по стимулированному потоку статистически значимыми не были, что указывало на относительную сохранность секреторного резерва при одновременном снижении базальной секреции.

Относительная вязкость возрастала от 1,00 \pm 0,05 в контроле до 1,18 \pm 0,07 при бронхиальной астме и 1,25 \pm 0,10 при ХОБЛ. На фоне этого при ХОБЛ фиксировалось увеличение лизоцима и лактоферрина до 7,0 \pm 1,5 и 3,0 \pm 1,0 мкг/мл соответственно, тогда как при бронхиальной астме эти показатели оставались близкими к контрольным. Активность α -амилазы характеризовалась значительной индивидуальной вариабельностью и не продемонстрировала самостоятельной дифференциальной ценности.

Таблица 2. Физико-химические показатели слюны и маркёры врождённой защиты (M \pm m)

Показатель	Контроль	Бронхиальная астма	ХОБЛ	р
рН	7,10 \pm 0,15	6,70 \pm 0,20	6,50 \pm 0,25	<0,05
Нестимулированный поток, мл/мин	0,30 \pm 0,05	0,22 \pm 0,04	0,18 \pm 0,05	<0,05
Стимулированный поток, мл/мин	1,50 \pm 0,10	1,35 \pm 0,12	1,20 \pm 0,15	>0,1
Относительная вязкость, ед.	1,00 \pm 0,05	1,18 \pm 0,07	1,25 \pm 0,10	<0,05
Лизоцим, мкг/мл	5,0 \pm 1,0	5,2 \pm 1,1	7,0 \pm 1,5	<0,05
Лактоферрин, мкг/мл	2,0 \pm 0,5	1,8 \pm 0,6	3,0 \pm 1,0	<0,05
α -Амилаза, Ед/мл	130 \pm 50	120 \pm 60	100 \pm 50	>0,1

Примечание. р — результат межгруппового сравнения.

Отражены изменения секреторной функции слюнных желёз, кислотно-основного состояния и реологических свойств слюны. У пациентов выявлены снижение рН и скорости слюноотделения, увеличение вязкости, а также вариабельные изменения лизоцима и лактоферрина в зависимости от характера воспалительного процесса.

Интегральная диагностическая модель

Объединение иммунобиохимических и физико-химических показателей дало более высокий диагностический эффект, чем анализ одиночных маркёров.

Логистическая модель IL-6+IL-8+ЕСР+pH показала высокую статистическую значимость ($\chi^2=48,2$; $p<0,0001$) и объясняла существенную долю вариабельности групповой принадлежности (Nagelkerke $R^2=0,72$). В ROC-анализе площадь под кривой составила $0,93\pm 0,03$ при 95% доверительном интервале 0,87–0,99.

При оптимальном пороге классификации чувствительность модели достигала 88%, специфичность — 90%. Дополнительную клиническую значимость подтверждали корреляционные данные: у пациентов с бронхиальной астмой более высокие значения IL-8, IL-10 и ЕСР ассоциировались с более низкими показателями ОФВ₁ и большей частотой обострений (ρ от $-0,4$ до $-0,5$; $p<0,01$). При уровне ЕСР выше 600 мкг/л неудовлетворительный контроль заболевания прогнозировался с чувствительностью 80%.

Даже в публикационном формате вторичного анализа стало очевидно, что интегральная оценка превосходит разрозненное использование отдельных показателей. Практически это означает возможность построения короткого скринингового протокола, в котором иммунный и секреторный блоки оцениваются одновременно.

Таблица 3. Диагностические характеристики интегральной панели IL-6+IL-8+ЕСР+pH

Модель	Статистический показатель	Значение
IL-6+IL-8+ЕСР+pH	χ^2	48,2
IL-6+IL-8+ЕСР+pH	p	<0,0001
IL-6+IL-8+ЕСР+pH	Nagelkerke R^2	0,72
IL-6+IL-8+ЕСР+pH	AUC	$0,93\pm 0,03$
IL-6+IL-8+ЕСР+pH	95% ДИ	0,87–0,99
IL-6+IL-8+ЕСР+pH	Чувствительность	88%
IL-6+IL-8+ЕСР+pH	Специфичность	90%

Примечание. Модель построена методом логистической регрессии и проверена ROC-анализом.

Показаны параметры диагностической эффективности комбинированной панели, включающей иммунологические и физико-химические показатели слюны. Совокупное использование маркёров обеспечивает высокую точность дифференциации пациентов и контроля с оптимальным балансом чувствительности и специфичности.

Обсуждение Полученные данные подтверждают, что слюна может рассматриваться как интегративная диагностическая среда, а не как вторичный материал, пригодный лишь для косвенных наблюдений. Бронхиальная астма характеризовалась выраженным эозинофильным компонентом, что проявлялось подъёмом ЕСР и IL-8, тогда как ХОБЛ ассоциировалась с усилением IL-17A, IFN- γ и белков врождённой защиты. Следовательно, различия патогенеза двух заболеваний воспроизводятся на уровне слюнного профиля и доступны для неинвазивной регистрации.

Существенно, что диагностическую ценность повышал не только иммунный, но и физико-химический блок. Снижение pH, уменьшение базального слюноотделения и рост вязкости отражали секреторную дисфункцию слюнных желёз и изменение муцинового барьера. При ХОБЛ эти сдвиги были глубже, чем при бронхиальной астме,

что, вероятно, связано с большей длительностью воспаления, нейтрофильной активацией и лекарственной нагрузкой. Таким образом, включение простых физико-химических параметров в модель не является формальным дополнением, а расширяет её патофизиологическую информативность.

Интегральная панель IL-6+IL-8+ЕСР+pH оказалась статистически и клинически более сильной, чем любой отдельный показатель. Такое сочетание логично: IL-6 отражает общий провоспалительный фон, IL-8 — нейтрофильный хемотаксический сигнал, ЕСР — активность эозинофилов, а pH — состояние секреторного и барьерного звена. Поэтому модель способна не только различать больных и здоровых, но и уточнять характер воспалительного процесса. Для практики это особенно важно в ситуациях, когда инвазивные методы ограничены или нежелательны.

Клиническая интерпретация результатов позволяет выделить удобные ориентиры для фенотипизации. Рост ЕСР и IL-8 на фоне снижения pH и базального слюноотделения усиливает вероятность активного эозинофильного воспаления при бронхиальной астме. Напротив, повышение IL-17A, IFN- γ , лизоцима и лактоферрина при нормальных или близких к норме значениях ЕСР больше соответствует ХОБЛ с нейтрофильным компонентом. Такой подход не заменяет клинико-функциональное обследование, однако может повысить точность первичной неинвазивной оценки.

С практической точки зрения данные диссертации позволяют предложить рабочую логику интерпретации. Комбинация ЕСР выше 600 мкг/л, значимого повышения IL-8, pH ниже 6,8 и снижения базального слюноотделения усиливает вероятность активного эозинофильного фенотипа бронхиальной астмы. Иной набор признаков — отсутствие роста ЕСР при одновременном увеличении IL-6, IL-17A, лизоцима и лактоферрина — в большей степени соответствует ХОБЛ с нейтрофильным типом воспаления. Это делает слюнную панель полезной не только для разграничения больных и здоровых, но и для первичной фенотипической маршрутизации пациентов.

Ещё одно важное следствие состоит в возможности внедрения панели в рутинный лабораторный контур. pH, базальное слюноотделение и вязкость могут быть определены без дорогостоящей инфраструктуры, тогда как иммунный блок может выполняться пакетно. В таком сочетании исследование слюны становится реальным инструментом междисциплинарного взаимодействия пульмонолога, клинического лабораторного диагноста и стоматолога, поскольку состояние полости рта и секреторной функции слюнных желёз напрямую влияет на интерпретацию результатов.

Ограничения публикационного анализа должны учитываться. Работа основана на поперечном срезе и на тех подгруппах диссертационной выборки, которые представлены в результативных таблицах. Это не позволяет окончательно судить о причинно-следственных связях и требует дальнейшей проспективной валидации. Кроме того, в модель не включались микробиомные данные и абсолютные реологические характеристики. Вместе с тем стабильность полученных различий, высокие ROC-метрики и патофизиологическая согласованность результатов позволяют рассматривать предложенную панель как основание для следующего этапа клинической апробации.

Заключение



1. При бронхиальной астме слюнный профиль характеризуется преимущественным повышением ECP, IL-8, IL-6 и IL-10, тогда как при ХОБЛ более выражены IL-17A, IFN- γ , лизоцим и лактоферрин.

2. Физико-химические параметры слюны — снижение pH, уменьшение нестимулированного слюноотделения и увеличение относительной вязкости — дополняют иммунный блок и усиливают дифференциальную оценку фенотипа воспаления.

3. Интегральная панель IL-6+IL-8+ECP+pH демонстрирует высокую диагностическую эффективность и может рассматриваться как перспективный инструмент неинвазивного скрининга и фенотипирования пациентов с бронхиальной астмой и ХОБЛ.

Список литературы:

1. Deepa T., Thirrunavukkarasu N. Saliva as a potential diagnostic tool. *Indian J Med Sci.* 2010;64(7):293–306.
2. Schafer C.A., Schafer J.J., Yakob M., Lima P., Camargo P., Wong D.T. Saliva diagnostics: utilizing oral fluids to determine health status. *Monogr Oral Sci.* 2014;24:88–98.
3. Little F.F., Delgado D.M., Wexler P.J., Oppenheim F.G., Mitchell P., Feldman J.A. et al. Salivary inflammatory mediator profiling and correlation to clinical disease markers in asthma. *PLoS One.* 2014;9:e84449.
4. Schmekel B., Ahlner J., Malmström M., Venge P. Eosinophil cationic protein in saliva: a new marker of disease activity in bronchial asthma. *Respir Med.* 2001;95(8):670–675.
5. Cantó E., Roca E., Perea L., Rodrigo-Troyano A., Suarez-Cuartin G., Giner J. et al. Salivary immunity and lower respiratory tract infections in non-elite marathon runners. *PLoS One.* 2018;13(11):e0206059.
6. Hildebrandt T., Zawilska A., Trzcionka A., Tanasiewicz M., Mazurek H., Świętochowska E. Estimation of proinflammatory factors in the saliva of adult patients with cystic fibrosis and dental caries. *Medicina (Kaunas).* 2020;56(11):612.
7. Bansil R., Turner B.S. The biology of mucus: composition, synthesis and organization. *Adv Drug Deliv Rev.* 2018;124:3–15.
8. Yoshizawa J.M., Schafer C.A., Schafer J.J., Farrell J.J., Paster B.J., Wong D.T. Salivary biomarkers: toward future clinical and diagnostic utilities. *Clin Microbiol Rev.* 2013;26(4):781–791

