

УДК: 616.24-007

РОЛЬ ИММУНОБИОХИМИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ В РАННЕЙ ДИАГНОСТИКЕ ХОБЛ (ОБЗОР)

Арипова Т.У., Хамидуллаева Н.А.

Институт иммунологии и геномики человека АН РУз

XULOSA

Surunkali obstruktiv o'pka kasalligi (O'SOK) heterogen kasallikdir. O'SOK sog'liqni saqlash global muammosi bo'lganligi sababli, erta tashhis qo'yish va kasallikni erta o'zgartiruvchi terapevtik aralashuvlar ushbu sog'liqni saqlash ustuvor vazifasini hal qilishning yechimi bo'lishi mumkin. Erta O'SOK kontseptsiyasi tadqiqot va yangi davolash usullarini ko'rib chiqish uchun diqqat markazida bo'lib kelmoqda, chunki bu bosqichda aralashuv kasallik jarayonini to'xtatishi yoki orqaga qaytarishi mumkinligi taxmin qilingan. Biroq, hozirgi vaqtda erta O'SOKni aniqlash uchun umumiy qabul qilingan mezonlar mavjud emas. Ushbu sharh O'SOKning erta tashhisi uchun mantiqiy asoslar, mavjud dalillar bazasi va potentsial immunobiokimyoviy belgilarni o'rganadi.

Kalit so'zlar: *surunkali obstruktiv o'pka kasalligi (O'SOK), erta O'SOK, O'SOK diagnostikasi, immunobiokimyoviy markerlar.*

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) остается одной из основных причин заболеваемости и смертности в развитых странах и становится одним из основных заболеваний в развивающихся странах [1]. Это гетерогенное состояние, возникающее из-за различных сопутствующих патофизиологических процессов, таких как, плохое развитие легких, замедленный рост легких в раннем возрасте, повреждение легких, связанное с воздействием сигаретного дыма, загрязнением воздуха, инфекциями и ремоделированием дыхательных путей [2]. Это очень распространенное заболевание, поражающее 10% населения мира [3], значительно снижающее качество и продолжительность жизни больных [4]. Всемирная организация здравоохранения прогнозирует, что ХОБЛ станет третьей ведущей причиной смерти к 2030 году. Также ожидается, что бремя ХОБЛ возрастет в ближайшие десятилетия из-за постоянного воздействия факторов риска, таких как табачный дым, и старения населения [5].

В настоящее время у большинства пациентов ХОБЛ диагностируется после того, как развились хронические симптомы в результате наличия об-

SUMMARY

Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is a heterogeneous disease. As COPD is a global public health problem, early diagnosis combined with early therapeutic intervention that influences the disease course may be key to addressing this health priority. The concept of early COPD has become an area of focus for research and consideration of new treatments, as it has been suggested that intervention at this stage may potentially halt or reverse the disease process. However, there are currently no universally accepted criteria for defining early COPD. This review examines the rationale, current evidence base for early COPD, and potential immunobiochemical markers for early diagnosis of COPD.

Keywords: *chronic obstructive pulmonary disease, early COPD, COPD diagnosis, immunobiochemical markers.*

струкции дыхательных путей. Однако, в исследовании SPIROMICS было показано, что симптомы заболевания развиваются за долго до развития обструкции дыхательных путей. Следовательно, традиционно определяемое отношение объема форсированного выдоха за 1 с (ОФВ1)/форсированную жизненную емкость легких (ФЖЕЛ) < 0,7 может быть нечувствительным к ранней стадии заболевания дыхательных путей [6]. Это исследование также продемонстрировало, что респираторные симптомы наблюдались у 50% нынешних и бывших курильщиков с сохраненной функцией легких [6]. Таким образом, на сегодняшний день существует острая необходимость в раннем выявлении ХОБЛ, когда повреждение легких потенциально обратимо.

Концепции определения ранней стадии ХОБЛ

Важно отметить, что ранняя ХОБЛ не является синонимом легкой ХОБЛ, поскольку болезнь может длиться несколько лет, хоть и в легкой стадии. Ранняя ХОБЛ относится к временной точке в истории болезни [7]. В настоящее время мало что известно о том, когда начинаются самые ранние изменения ХОБЛ у восприимчивых людей. Некоторые авторы предпола-

гают, что эти изменения могут начинаться еще внутриутробно [8], прогрессируя в детстве, например, при рецидивирующих инфекциях, пассивном курении и т. д., и продолжаться в подростковом возрасте при дальнейшем активном и пассивном воздействии сигаретного дыма, что приводит к снижению функции легких, увеличивая риск постановки диагноза ХОБЛ в более позднем возрасте. В настоящее время отсутствует общепринятое определение ранней стадии ХОБЛ, что создает трудности для исследований, направленных на изучение этой важной концепции. Это связано, как упоминалось ранее, отчасти со сложностями, связанными с определением ХОБЛ как таковым с точки зрения начала заболевания, а также с неоднородностью состояния. Спирометрия сама по себе, особенно с фиксированным пороговым значением, неточна в обозначении начала ХОБЛ. Кроме того, и ОФВ₁, и ФЖЕЛ снижаются с возрастом, но ОФВ₁ снижается быстрее, и поэтому фиксированное диагностическое пороговое отношение 0,7, которое определяет текущую диагностику, приводит к недостаточной диагностике ХОБЛ у молодых людей и избыточной диагностике у пожилых людей [9].

Потенциальные методы диагностики ранних стадий заболевания

Для того, чтобы как можно раньше выявить людей, подверженных риску развития ХОБЛ, и уточнить концепцию ранней ХОБЛ, следует рассмотреть ряд аспектов, включая факторы риска, ранние патофизиологические изменения и клинические проявления.

Факторы риска

На разных этапах жизни различные токсические воздействия могут приводить к изменениям функции легких. Однако, поскольку ХОБЛ является результатом сложного взаимодействия генов и окружающей среды, генетические факторы играют важную роль в развитии ХОБЛ [10]. Наиболее хорошо документированным генетическим фактором риска ХОБЛ является тяжелый наследственный дефицит альфа-1-антитрипсина (AATD) [11]. У курящих людей с AATD и генотипом ингибитора протеазы ZZ (PiZZ) наблюдалась значительно более низкая продолжительность жизни, более выраженное снижение ОФВ₁ и более выраженная обструкция дыхательных путей, чем у некурящих людей с PiZZ [12]. Другие потенциальные генетические факторы риска включают полиморфизмы в гене 2-го члена семейства серпинов E (SERPINE2), трансформирующего фактора роста бета 2 (TGFB2), белка, взаимодействующего с ежом (HHR23B), patched 1 (PTCH1), семейства матриксных металлопротеиназ (MMP) и нескольких других [13,14]. Эти гены в конечном итоге вызывают снижение функции легких с аномальным развитием легких, ремоделированием дыхательных путей, транзиторным ранним хрипом и вариантом риска HHR23B, ухудшающим иммунитет [15].

Помимо генома, транскриптомные изменения в некоторых генах могут также быть вовлечены в про-

грессирование ранней ХОБЛ. Общеизвестно, что воспаление и окислительный стресс являются важнейшими патогенными факторами прогрессирования ХОБЛ. В то время как интерлейкин 1 (IL1) и фактор некроза опухоли альфа (TNF α) необходимы для иницирования и поддержания воспаления, фермент эпоксидазы 1 (EPHX1) может смягчать повышенный окислительный стресс в легких, вызванный сигаретным дымом (СД) [16]. Поэтому молекулы, регулирующие эти фенотипы, могут служить диагностическими биомаркерами ранней ХОБЛ. Кроме этого, предыдущие исследования наблюдали повышенный уровень матриксной металлопротеиназы-8 мокроты (ММП-8) у симптомагических курильщиков по сравнению с бессимптомными курильщиками и некурящими, что указывает на потенциальную диагностическую роль ММП-8 при ранней ХОБЛ [17]. Аналогичные результаты были также получены для катепсина S и цистатина C [18].

Многочисленные исследования подтвердили, что патогенез ХОБЛ может начаться ещё до рождения и что события раннего периода жизни оказывают огромное влияние на конечную функцию легких у взрослых [19]. В дородовой период курение матери, низкий или очень низкий вес при рождении, преждевременные роды, дисбаланс питания матери и дефицит витамина D являются факторами риска развития ХОБЛ во взрослом возрасте [20,21]. Воздействие загрязнённого воздуха, курение в детстве и ряд заболеваний, включая респираторные инфекции и астму, могут привести к нарушению развития легких, снижению функции легких и обструкции дыхательных путей [22,23]. Некоторые общие факторы риска, такие как пол, социально-экономический статус и большая продолжительность жизни также заслуживают внимания. Эти факторы риска могут частично объяснять ХОБЛ у некурящих, поэтому их также следует учитывать при определении ранней стадии ХОБЛ.

Ранние патофизиологические изменения

Патологически ХОБЛ характеризуется постоянными респираторными симптомами и хроническим ограничением воздушного потока, возникающими в результате различных степеней заболевания мелких дыхательных путей (ЗДП) и эмфиземы [24]. Однако, в отличие от эмфиземы, обнаруженной с помощью КТ, и обструкции воздушного потока, обнаруженной с помощью спирометрии, которые указывают на позднее или умеренно-тяжелое заболевание, ЗДП является патологической характеристикой раннего ХОБЛ [24]. В настоящее время считается, что непосредственной причиной ЗДП являются вызванные курением эпигенетические изменения эпителия дыхательных путей, которые приводят к воспалению и прогрессированию ЗДП [25]. Нормальный эпителий дыхательных путей состоит из множества типов клеток, включая реснитчатые, вырабатывающие слизь бокаловидные и секреторные (клубные) клетки, все из которых происходят из самообновляющихся ба-

зальных клеток. Однако курение сигарет перепрограммирует эти предшественники эпигенетически, что приводит к гиперплазии базальных и бокаловидных клеток, потере клубовидных и реснитчатых клеток и повреждению ресничек. Эти изменения ослабляют иммунологическую защиту мелких дыхательных путей и увеличивают секрецию слизи [25]. Из-за уменьшения количества реснитчатых клеток становится трудно очищать повышенное количество слизи с измененными физическими свойствами, что приводит к утолщению слоя слизи. Анализ образцов индуцированной мокроты в когорте SPIROMICS показал, что концентрации муцина в мокроте в значительной степени связаны с форсированным выдохом на уровне 25% и 75% от объема легких и годовой частотой обострений [26], что позволяет предположить, что агенты, которые устраняют гиперсекрецию слизи, могут остановить развитие или прогрессирование ХОБЛ.

Кроме того, отсутствие молекул защиты хозяина вносит такой же или даже больший вклад в патогенез ЗДП. Лаучо-Контрерас и др. подтвердили, что секреторный белок-16 клубочковых клеток (CC16), ключевой секреторируемый продукт клубочковых клеток дыхательных путей, играет защитную роль в развитии ХОБЛ [27]. CC16 был резко снижен в дыхательных путях курильщиков, пациентов с ХОБЛ и в мышинной модели ХОБЛ, вызванной СД. Стимулируя сигнальный путь ядерного фактора-кВ (NF-кВ), дефицит CC16 усугубил образование эмфиземы и патологию дыхательных путей у мышей, подвергшихся воздействию СД [27]. Потеря транслокации секреторного иммуноглобулина А (IgA) в просвет дыхательных путей является еще одним значительным патофизиологическим изменением, вызванным курением [25]. В нормальных мелких дыхательных путях димерный IgA транслоцируется в просвет слизистой оболочки полимерным рецептором Ig (pIgR). Этот процесс уменьшает воспаление дыхательных путей, связываясь с бактериями и их продуктами, чтобы облегчить их устранение. Однако снижение экспрессии pIgR в ответ на курение приводит к дефициту секреторного IgA в отдельных мелких дыхательных путях, что приводит к бактериальной инвазии и адгезии, хроническому воспалению и ремоделированию стенок дыхательных путей [28]. Таким образом, раннее выявление и вмешательство в патогенез ЗДП является многообещающей стратегией для остановки прогрессирования ХОБЛ.

Иммунобиохимические маркеры ХОБЛ

Общеизвестно, что существует неудовлетворенная потребность в биомаркерах крови для диагностики и прогнозирования ХОБЛ. Поиск этих биомаркеров был революционизирован с помощью высокопроизводительных методов секвенирования и мультиплексных платформ, которые могут измерять тысячи генных транскриптов, белков или метаболитов.

В настоящее время наиболее перспективным биомаркером ХОБЛ в крови является sRAGE. sRAGE представляет собой изоформу трансмембранного рецептора для конечных продуктов гликозилирования (RAGE), в котором отсутствует трансмембранный домен из-за протеолитического расщепления [29]. RAGE кодируется геном AGER, а однонуклеотидные полиморфизмы в AGER были связаны с ХОБЛ и эмфиземой в целевых и общегеномных исследованиях [30]. RAGE связывает молекулы молекулярного паттерна, связанные с повреждением, для поддержания воспаления в эпителиальных клетках легких. Плазменный sRAGE является предиктором прогрессирования эмфиземы [31]. Кроме того, sRAGE станет первым биомаркером эмфиземы в крови, который будет представлен в Управление по контролю за продуктами питания и лекарственными средствами и Европейское агентство по лекарственным средствам в Программе квалификации биомаркеров [32].

В другом исследовании 633 пациентов с COPD Gene Кэролан и коллеги продемонстрировали, что плазменный адипонектин был выше у пациентов с эмфиземой, даже после поправки на индекс массы тела [33]. Дополнительные анализы Су и коллег показали, что у пациентов с эмфиземой, страдающих остеопорозом, были самые высокие уровни адипонектина [34]. Это исследование также показало, что поправка на Т-кадгерин, рецептор адипонектина, усилила статистическую связь. Другие плазменные биомаркеры ХОБЛ и эмфиземы включают sICAM1 (растворимая внутриклеточная молекула адгезии 1), кадгерин 1, кадгерин 13 [35], СРБ (С-реактивный белок), SP-D (белок сурфактанта D) и CC16 (секреторный белок клубочковых клеток 16) [36].

Хотя sRAGE в настоящее время является лучшим биомаркером эмфиземы, маркеры воспаления в крови также связаны с тяжестью и прогрессированием ХОБЛ. Например, в исследовании 2123 субъектов из COPD Gene и 1117 субъектов из SPIROMICS Брэдфорд и коллеги обнаружили, что плазменные IL-6 и IL-8 были положительно связаны с прогрессированием эмфиземы независимо от тяжести ХОБЛ и статуса курения [37]. IL-6 также был связан с прогрессирующим снижением ОФВ1 в течение 5 лет.

Феномен, редко упоминаемый в литературе по биомаркерам, заключается в том, что исследования биомаркеров часто используют сотни или тысячи субъектов для достижения статистической значимости. Такие большие размеры выборки необходимы, поскольку дополнительная фенотипическая дисперсия, объясняемая одним биомаркером ХОБЛ, часто составляет всего 2–3% при включении в модели с клиническими предикторами [38]. Стратегия, которая, вероятно, будет более успешной, заключается в использовании панели биомаркеров, а не отдельных биомаркеров. В исследовании Земанса и его коллег с участием 1465 субъектов COPD Gene и 2746 субъектов ECLIPSE комбинация пяти плазменных био-

маркеров (СС16, СРБ, фибриноген, SP-D и sRAGE) объяснила 13% дисперсии ОФВ1 в COPDGene и 24% дисперсии в ECLIPSE, что было существенно выше, чем у отдельных биомаркеров (1–11%) [36].

Курение приводит к повышению уровня никотина и его метаболитов, но также оказывает сильное влияние на системный метаболизм аминокислот, липидов и других малых молекул [39]. Бар и коллеги, используя 211 субъектов COPDGene, обнаружили, что экспрессия ферментов сфинголипидного пути мононуклеарных клеток периферической крови и малые молекулы плазмы, такие как церамиды, являются биомаркерами ХОБЛ и эмфиземы, даже после поправки на курение [40]. Последующее целевое исследование метаболизма плазмы 129 субъектов COPDGene дополнительно идентифицировало пять сфингомиелинов, которые были связаны с эмфиземой, а также четыре тригексозилцерамида и три дигексозилцерамида, которые были связаны с обострениями ХОБЛ [41]. Сиск и коллеги объединили данные по экспрессии генов и сфинголипидам, чтобы показать, что у пациентов с ХОБЛ наблюдались противоречивые отношения между экспрессией генов сфинголипидов и метаболитами сфинголипидов, что позволяет предположить, что измененная регуляция сфинголипидов при ХОБЛ была вызвана не только измененной экспрессией генов [42]. Также сфинголипидные пути были успешно исследованы в экспериментальных моделях ХОБЛ [43]. Результаты этих исследований подтверждают, что сфинголипиды являются потенциальными новыми терапевтическими мишенями для лечения эмфиземы. Кроме этого, следует отметить, что COPDGene был использован для установления перекрытия между метаболомом плазмы и метаболомом жидкости БАЛ (БАЛ) [44]. В исследовании пяти субъектов COPDGene Круикшанк-Куинн и коллеги обнаружили, что большинство из 298 аннотированных метаболитов в БАЛ и плазме имели положительную корреляцию [45]. Примерами являются 1-гомоцистеиновая кислота, октадеcanoилкарнитин, N-ундеcanoилглицин, LysoPE (лизофосфатидилэтаноламин) (18:0), LysoPC (лизофосфатидилхолин) (20:4), MG (моноглицериды) (18:0), PC (фосфотидилхолины) (32:0), PC (34:0), PE (фосфотидилхолины) (40:7) и PI (фосфотидилинозитол) (38:5). Это говорит о том, что плазма может служить заместителем БАЛ.

Также, воспалительные биомаркеры, такие как СРБ, фибриноген и количество лейкоцитов, отражают системное воспаление и связаны с тяжестью заболевания и рисками обострения [46]. Дополнительные биомаркеры окислительного стресса, включая малоновый диальдегид (МДА) и окисленные продукты ДНК/РНК, дают представление о системных окислительно-восстановительных дисбалансах, наблюдаемых при ХОБЛ [47]. Кроме того, циркулирующие биомаркеры, указывающие на ремоделирование внеклеточного матрикса (например, ММП, ТИМП) и эн-

дотелиальную дисфункцию (например, эндотелин-1, фактор фон Виллебранда), могут предоставить прогностические индикаторы прогрессирования заболевания и сопутствующих сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов с ХОБЛ [48].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, ХОБЛ – это сложный процесс взаимодействия окружающей среды, генетики и хозяина, который развивается с течением времени, проявляясь как системное хроническое воспаление. С течением времени происходит сужение и исчезновение мелких дыхательных путей, причем даже терминальные и респираторные бронхиолы подвергаются риску и утрачиваются до того, как постепенное снижение функции легких становится очевидным на ранней стадии ХОБЛ. Это приводит к необратимому повреждению, фиксированной обструкции воздушного потока и хроническим респираторным симптомам. С продвижением области исследований ранней ХОБЛ произошел сдвиг в парадигме профилактики и лечения ХОБЛ в сторону профилактики и раннего вмешательства. Однако, все еще требуется значительное количество исследований и проверок, прежде чем биомаркеры для выявления ранней ХОБЛ могут быть внедрены в клиническую практику.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ташметова Г. Т. Ранние проявления хронической обструктивной болезни легких : научное издание / Г. Т. Ташметова // Вестник ассоциации пульмонологов Центральной Азии : ежегодный научно-практический журнал. - 2019. - Том Вып. 16, N 1/4. - С. 76-81. - Библиогр.: 8 назв.
2. Таютина Т.В., Шлык С.В. Диагностическое значение маркеров системного воспаления и эндотелиальной дисфункции при формировании клинических фенотипов хронической обструктивной болезни легких // Терапия. 2024. Т. 10. № 7 (79). С. 64-72.
3. Убайдуллаева Н. Н. Предикторы и маркеры развития хронической обструктивной болезни легких : научное издание / Н. Н. Убайдуллаева, Д. С. Толибов // Вестник Ташкентской Медицинской Академии. - 2017. - N4. - С. 71-73. - Библиогр.: 5 назв.
4. Ўпка сурункали касаллигининг диагностикаси, даволаш ва профилактикаси : научное издание // O`zbekiston umumiy amaliyot vrachlari axborotnomasi. - 2019. - N 1. - С. 24-31.
5. Хамдамов Б. З. Иммунобиохимические маркеры ремоделирования правых отделов сердца при перекресте бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких: обзор / Б.З. Хамдамов, Ф. О. Ташева, Н. Я. Файзуллаева. - Текст : непосредственный // Журнал теоретической и клинической медицины : научно-практический медицинский журнал. - 2024. - N 1. - С. 54-61.

6. Almuntashiri S., Alhumaid A., Zhu Y., Han Y., Dutta S., Khilji O., Zhang D., Wang X. TIMP-1 and its potential diagnostic and prognostic value in pulmonary diseases. *Chin. Med. J. Pulm. Crit. Care Med.* 2023;1:67–76. doi: 10.1016/j.pccm.2023.05.002.
7. An L, Lin Y, Yang T, Hua L. Exploring the interaction among EPHX1, GSTP1, SERPINE2, and TGFB1 contributing to the quantitative traits of chronic obstructive pulmonary disease in Chinese Han population. *Hum Genomics.* 2016;10:13. doi: 10.1186/s40246-016-0076-0.
8. Ali KM. Childhood asthma as a risk factor for adult chronic obstructive pulmonary disease: a systematic review and meta-analysis. *Expert Rev Respir Med.* 2022;16:461–467. doi: 10.1080/17476348.2021.1864328.
9. Balte P, Karmaus W, Roberts G, Kurukulaaratchy R, Mitchell F, Arshad H. Relationship between birth weight, maternal smoking during pregnancy and childhood and adolescent lung function: a path analysis. *Respir Med.* 2016;121:13–20. doi: 10.1016/j.rmed.2016.10.010.
10. Bradford E, Jacobson S, Varasteh J, Comellas AP, Woodruff P, O’Neal W, et al. The value of blood cytokines and chemokines in assessing COPD. *Respir Res.* 2017;18:180. doi: 10.1186/s12931-017-0662-2.
11. Bahr TM, Hughes GJ, Armstrong M, Reisdorph R, Coldren CD, Edwards MG, et al. Peripheral blood mononuclear cell gene expression in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2013;49:316–323. doi: 10.1165/rcmb.2012-0230OC.
12. Bowler RP, Jacobson S, Cruickshank C, Hughes GJ, Siska C, Ory DS, et al. Plasma sphingolipids associated with chronic obstructive pulmonary disease phenotypes. *Am J Respir Crit Care Med.* 2015;191:275–284. doi: 10.1164/rccm.201410-1771OC.
13. Bartel S., Schulz N., Alessandrini F., Schamberger A.C., Pagel P., Theis F.J., Milger K., Noessner E., Stick S.M., Kicic A., et al. Pulmonary microRNA profiles identify involvement of Creb1 and Sec14l3 in bronchial epithelial changes in allergic asthma. *Sci. Rep.* 2017;7:46026. doi: 10.1038/srep46026.
14. Coxson HO, Dirksen A, Edwards LD, Yates JC, Agustí A, Bakke P, et al. Evaluation of COPD Longitudinally to Identify Predictive Surrogate Endpoints (ECLIPSE) Investigators. The presence and progression of emphysema in COPD as determined by CT scanning and biomarker expression: a prospective analysis from the ECLIPSE study. *Lancet Respir Med.* 2013;1:129–136. doi: 10.1016/S2213-2600(13)70006-7.
15. Casaburi R, Celli B, Crapo J, Criner G, Croxton T, Gaw A, et al. The COPD Biomarker Qualification Consortium (CBQC) COPD. 2013;10:367–377. doi: 10.3109/15412555.2012.752807.
16. Carolan BJ, Kim YI, Williams AA, Kechris K, Lutz S, Reisdorph N, et al. The association of adiponectin with computed tomography phenotypes in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2013;188:561–566. doi: 10.1164/rccm.201212-2299OC.
17. Carolan BJ, Hughes G, Morrow J, Hersh CP, O’Neal WK, Rennard S, et al. The association of plasma biomarkers with computed tomography-assessed emphysema phenotypes. *Respir Res.* 2014;15:127. doi: 10.1186/s12931-014-0127-9.
18. Cruickshank-Quinn C, Powell R, Jacobson S, Kechris K, Bowler RP, Petrache I, et al. Metabolomic similarities between bronchoalveolar lavage fluid and plasma in humans and mice. *Sci Rep.* 2017;7:5108. doi: 10.1038/s41598-017-05374-1.
19. Dahl M, Nordestgaard BG. Markers of early disease and prognosis in COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2009;4:157–167. doi: 10.2147/copd.s3106.
20. de Marco R, Accordini S, Marcon A, et al. Risk factors for chronic obstructive pulmonary disease in a European cohort of young adults. *Am J Respir Crit Care Med.* 2011;183:891–897. doi: 10.1164/rccm.201007-1125OC.
21. degli Uberti EC, Trasforini G, Salvadori S, Margutti A, Teodori V, Rotola C, et al. Effect of somatostatin on growth hormone and prolactin response to dermorphin in man. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1985;108:20–25. doi: 10.1530/acta.0.1080020.
22. Fazleen A, Wilkinson T. Early COPD: current evidence for diagnosis and management. *Ther Adv Respir Dis.* 2020 Jan-Dec;14:1753466620942128. doi: 10.1177/1753466620942128. PMID: 32664818; PMCID: PMC7394029.
23. Gu F, Derkach A, Freedman ND, Landi MT, Albanes D, Weinstein SJ, et al. Cigarette smoking behaviour and blood metabolomics. *Int J Epidemiol.* 2016;45:1421–1432. doi: 10.1093/ije/dyv330.
24. Hobbs BD, de Jong K, Lamontagne M, Bossé Y, Shrine N, Artigas MS, et al. COPD Gene Investigators; ECLIPSE Investigators; LifeLines Investigators; SPIROMICS Research Group; International COPD Genetics Network Investigators; UK BiLEVE Investigators; International COPD Genetics Consortium. Genetic loci associated with chronic obstructive pulmonary disease overlap with loci for lung function and pulmonary fibrosis. *Nat Genet.* 2017;49:426–432. doi: 10.1038/ng.3752.
25. Janssen R, Piscoer I, Franssen F, Wouters E. Emphysema: looking beyond alpha-1 antitrypsin deficiency. *Expert Rev Respir Med.* 2019;13:381–397. doi: 10.1080/17476348.2019.1580575.
26. Kesimer M, Ford AA, Ceppe A, et al. Airway mucin concentration as a marker of chronic bronchitis. *N Engl J Med.* 2017;377:911–922. doi: 10.1056/NEJMoa1701632.
27. Laicho-Contreras ME, Polverino F, Gupta K, et al. Protective role for club cell secretory protein-16 (CC16) in the development of

- COPD. *Eur Respir J*. 2015;45:1544–1556. doi: 10.1183/09031936.00134214.
28. Mayer AS, Stoller JK, Vedral S, et al. Risk factors for symptom onset in PI*Z alpha-1 antitrypsin deficiency. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2006;1:485–492. doi: 10.2147/copd.2006.1.4.485.
29. McEvoy CT, Spindel ER. Pulmonary effects of maternal smoking on the fetus and child: effects on lung development, respiratory morbidities, and life long lung health. *Paediatr Respir Rev*. 2017;21:27–33. doi: 10.1016/j.prrv.2016.08.005.
30. McDonough JE, Yuan R, Suzuki M, et al. Small-airway obstruction and emphysema in chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med*. 2011;365:1567–1575. doi: 10.1056/NEJMoa1106955.
31. Martinez FJ, Han MK, Allinson JP, et al. At the root: defining and halting progression of early chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2018;197:1540–1551. doi: 10.1164/rccm.201710-2028PP.
32. Nakajima T, Nakamura H, Owen CA, et al. Plasma cathepsin S and cathepsin S/cystatin C ratios are potential biomarkers for COPD. *Dis Markers*. 2016;2016 doi: 10.1155/2016/4093870.
33. Ostridge K, Williams N, Kim V, et al. Relationship between pulmonary matrix metalloproteinases and quantitative CT markers of small airways disease and emphysema in COPD. *Thorax*. 2016;71:126–132. doi: 10.1136/thoraxjnl-2015-207428
34. Polosukhin VV, Richmond BW, Du RH, et al. Secretory IgA deficiency in individual small airways is associated with persistent inflammation and remodeling. *Am J Respir Crit Care Med*. 2017;195:1010–1021. doi: 10.1164/rccm.201604-0759OC.
35. Rennard SI, Drummond MB. Early chronic obstructive pulmonary disease: definition, assessment, and prevention. *Lancet* 2015; 385: 1778–1788.
36. Regan EA, Hersh CP, Castaldi PJ, DeMeo DL, Silverman EK, Crapo JD, Bowler RP. Omics and the Search for Blood Biomarkers in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Insights from COPDGene*. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2019 Aug;61(2):143-149. doi: 10.1165/rcmb.2018-0245PS. PMID: 30874442; PMCID: PMC6670029.
37. Soriano JB, Polverino F, Cosio BG. What is early COPD and why is it important? *Eur Respir J* 2018; 52: 1801448.
38. Sapey E, Bafadhel M, Bolton CE, et al. Building toolkits for COPD exacerbations: lessons from the past and present. *Thorax* 2019; 74: 898–905.
39. Suh YJ, McDonald MN, Washko GR, Carolan BJ, Bowler RP, Lynch DA, et al. COPDGene Investigators. Lung, fat and bone: increased adiponectin associates with the combination of smoking-related lung disease and osteoporosis. *Chronic Obstr Pulm Dis*. 2018;5:134–143. doi: 10.15326/jcopdf.5.2.2016.0174.
40. Siska C, Bowler R, Kechris K. The discordant method: a novel approach for differential correlation. *Bioinformatics*. 2016;32:690–696. doi: 10.1093/bioinformatics/btv633.
41. Su B., Liu T., Fan H., Chen F., Ding H., Wu Z., Wang H., Hou S. Inflammatory Markers and the Risk of Chronic Obstructive Pulmonary Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS ONE*. 2016;11:e0150586. doi: 10.1371/journal.pone.0150586.
42. Tibboel J, Reiss I, de Jongste JC, Post M. Ceramides: a potential therapeutic target in pulmonary emphysema. *Respir Res*. 2013;14:96. doi: 10.1186/1465-9921-14-96.
43. van der Plaats DA, de Jong K, Lahousse L, et al. Genome-wide association study on the FEV1/FVC ratio in never-smokers identifies HHIP and FAM13A. *J Allergy Clin Immunol*. 2017;139:533–540. doi: 10.1016/j.jaci.2016.06.062.
44. Veras MM, de Oliveira Alves N, Fajersztajn L, Saldiva P. Before the first breath: prenatal exposures to air pollution and lung development. *Cell Tissue Res*. 2017;367:445–455. doi: 10.1007/s00441-016-2509-4.
45. Woodruff PG, Barr RG, Bleecker E, et al. Clinical significance of symptoms in smokers with preserved pulmonary function. *N Engl J Med* 2016; 374: 1811–1821.
46. Yun JH, Lee C, Liu T, et al. Hedgehog interacting protein-expressing lung fibroblasts suppress lymphocytic inflammation in mice. *JCI Insight*. 2021;6 doi: 10.1172/jci.insight.144575.
47. Yonchuk JG, Silverman EK, Bowler RP, Agustí A, Lomas DA, Miller BE, et al. Circulating soluble receptor for advanced glycation end products (sRAGE) as a biomarker of emphysema and the RAGE axis in the lung. *Am J Respir Crit Care Med*. 2015;192:785–792. doi: 10.1164/rccm.201501-0137PP.
48. Zemans RL, Jacobson S, Keene J, Kechris K, Miller BE, Tal-Singer R, et al. Multiple biomarkers predict disease severity, progression and mortality in COPD. *Respir Res*. 2017;18:117. doi: 10.1186/s12931-017-0597-7.