

ОЦЕНКА РОЛИ ЦИТОКИН-ОПОСРЕДОВАННЫХ МЕХАНИЗМОВ В РАЗВИТИИ ДИСФУНКЦИИ ДЫХАТЕЛЬНЫХ МЫШЦ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ

Калинина Е.П.¹, Гельцер Б.И.¹, Курпатов И.В.¹, Горборукова Т.В.¹,
Гвозденко Т.А.²

¹ ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет» Министерства науки и высшего образования РФ,
г. Владивосток, Россия

² Владивостокский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» –
Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения,
г. Владивосток, Россия

Резюме. Исследованы силовые индикаторы дыхательных мышц (ДМ) у 85 мужчин в возрасте 39–78 лет, находившихся на стационарном лечении по поводу обострения хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) различной степени тяжести. На аппарате MicroRPM (CareFusion, Великобритания) определяли уровни максимального экспираторного (MEP) и инспираторного (MIP) давлений в ротовой полости, а также уровень интраназального давления при выполнении SNIP-теста. Измеренные величины MEP, MIP и SNIP соотносили с должными. В сыворотке крови определяли концентрацию цитокинов: IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, IL-21, TNF α , IFN γ и TGF- β . Для обработки результатов исследования использовали методы канонического анализа и кластеризации. У больных ХОБЛ легкой степени регистрировался экспираторный тип дисфункции ДМ, при среднетяжелой и тяжелой – экспираторно-инспираторный, а при крайне тяжелой преобладала дисфункция диафрагмы. Кластерный анализ позволил выделить 3 группы больных с характерными комбинациями индикаторов силы ДМ и иммунных показателей. Цитокиновый профиль первого кластера отличался максимальной концентрацией IL-17A, IL-21, TNF α и TGF- β , а силовые индикаторы ДМ имели минимальные значения. Во втором кластере снижение силовых индикаторов на 25–40% по отношению к контролю сочеталось с резким подъемом IL-6 на фоне умеренного повышения IL-21 и TGF- β . У больных третьего кластера регистрировался максимальный уровень IL-6, IL-10 и IFN γ при относительно низких значениях IL-17A, IL-21 и TGF- β , а показатели MEP, MIP и SNIP достоверно не различались от их уровня во втором кластере. Результаты канонического и корреляционного анализа указывали на наличие взаимосвязей как отдельных цитокинов, так и их пула с показателями силы ДМ, выраженностью одышки и функциональным статусом больных ХОБЛ, что подтверждало участие цитокин-опосредованных механизмов в развитии респираторной мышечной дисфункции.

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь легких, дыхательные мышцы, цитокины

Адрес для переписки:

Калинина Елена Петровна
ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет»
Министерства науки и высшего образования РФ
690066, Россия, г. Владивосток, ул. Печорская, 8.
Тел.: 8 (904) 627-07-26.
E-mail: kalinina72@yandex.ru

Address for correspondence:

Kalinina Elena P.
Far Eastern Federal University, Vladivostok,
Russian Federation
690066, Russian Federation, Vladivostok, Pechorskaya str., 8.
Phone: 7 (904) 627-07-26.
E-mail: kalinina72@yandex.ru

Образец цитирования:

Е.П. Калинина, Б.И. Гельцер, И.В. Курпатов,
Т.В. Горборукова, Т.А. Гвозденко «Оценка роли
цитокин-опосредованных механизмов в развитии
дисфункции дыхательных мышц у больных хронической
обструктивной болезнью легких» // Медицинская
иммунология, 2019. Т. 21, № 3. С. 487-494.
doi: 10.15789/1563-0625-2019-3-487-494

© Калинина Е.П. и соавт., 2019

For citation:

E.P. Kalinina, B.I. Geltser, I.G. Kurpatov, T.V. Gorborkova,
T.A. Gvozdenko "Evaluation of cytokine-mediated mechanisms
involved in development of respiratory muscle dysfunction
in the patients with chronic obstructive pulmonary disease",
Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya,
2019, Vol. 21, no. 3, pp. 487-494.
doi: 10.15789/1563-0625-2019-3-487-494

DOI: 10.15789/1563-0625-2019-3-487-494

EVALUATION OF CYTOKINE-MEDIATED MECHANISMS INVOLVED IN DEVELOPMENT OF RESPIRATORY MUSCLE DYSFUNCTION IN THE PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

Kalinina E.P.^a, Geltser B.I.^a, Kurpatov I.G.^a, Gorborukova T.V.^a, Gvozdenko T.A.^b

^a Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation

^b Vladivostok Branch, Far Eastern Scientific Center of Respiratory Physiology and Pathology – Institute of Medical Climatology and Rehabilitation, Vladivostok, Russian Federation

Abstract. Respiratory muscle (RM) strength was studied in 85 men with exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). The strength indicators of expiratory (MEP) and inspiratory pressure (MIP, SNIP) in oral cavity were registered by means of the MicroRPM device (CareFusion, UK), as well as intranasal pressure levels by SNIP test. The measured MEP, MIP и SNIP values were compared to the proper indices. Serum concentrations of cytokines (IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, IL-21, TNF α , IFN γ and TGF- β) were determined. The results of the study were processed by means of canonical analysis and by clustering methods. Expiratory RM dysfunction was recorded in mild COPD, expiratory-inspiratory RM dysfunction was recorded in moderate COPD and the diaphragm dysfunction was recorded in severe COPD. Three groups of patients with different combinations of RM strength indicators and immune parameters were identified by means of cluster analysis. The cytokine profile in the first cluster was characterized by maximal concentrations of IL-17A, IL-21, TNF α and TGF- β , whereas RM strength indexes showed minimal values. In the second cluster, a decrease of RM strength indicators by 25-40% against control was associated with a sharp rise of IL-6, along with moderate increase of IL-21 and TGF- β concentrations. In the third cluster, maximal levels of IL-6, IL-10 and IFN γ were registered, along with low levels of IL-17A, IL-21 and TGF- β concentrations, whereas MEP, MIP и SNIP values did not sufficiently differ from their levels in second cluster. The results of canonical and correlation analysis indicated to interconnections between either certain cytokines, or their pool with the RM strength indicators, dyspnea severity and functional state of COPD patients, thus suggesting involvement of cytokine-mediated mechanisms in pathogenesis of the respiratory muscle dysfunction.

Keywords: chronic obstructive pulmonary disease, respiratory muscles, cytokines

Введение

Дыхательные мышцы (ДМ) являются эффективным аппаратом респираторной системы, обеспечивающим альвеолярную вентиляцию в соответствии с текущими запросами организма. Силу ДМ относят к важнейшим индикаторам их функционального состояния, а также к независимым предикторам развития дыхательной недостаточности и кардиоваскулярных осложнений [6]. Определение силы ДМ чаще всего осуществляют путем измерения статических давлений при «закрытых» дыхательных путях во время максимального вдоха и выдоха: максимального инспираторного (MIP – Maximum Inspiratory Pressure), экспираторного (MEP – Maximum Expiratory Pressure) и интраназального (SNIP – Sniff Nasal Inspiratory Pressure) давлений. Показатель MEP является индикатором силы экспираторных ДМ, а MIP и SNIP – инспираторных. Кроме того, показатель SNIP тесно коррелирует с уровнем трансдиафрагмального давления, что позволяет относить его к маркерам функциональной активности диафрагмы [9].

Дисфункция ДМ является одним из важнейших проявлений хронической обструктивной

болезни легких (ХОБЛ), а ее развитие тесно ассоциировано с патофизиологическими последствиями ремоделирования органов дыхания и системными проявлениями данной патологии. К последним относят хроническое системное воспаление (ХСВ), оксидативный стресс, избыточный протеолиз и другие типовые патологические процессы, продукты которых изменяют структурно-функциональную организацию ДМ и ограничивают их сократительный потенциал. Взаимодействие локальных и системных факторов заболевания формирует своеобразный метаболический фон, способствующий развитию коморбидности у больных ХОБЛ, что в полной мере относится к дисфункции поперечнополосатой мускулатуры, в том числе ДМ. ХСВ рассматривают как «классическое» проявление ХОБЛ, которое характеризуется тотальной воспалительной реактивностью клеточных и плазменных факторов крови, структурных элементов сосудистой стенки и мышечной ткани, а также нарушением микроциркуляции. К основным медиаторам ХСВ относят провоспалительные цитокины (IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-9, IL-12, IL-18, IL-22), фактор некроза опухоли – α (TNF α),

матриксные протеиназы, С-реактивный белок, фибриноген, лейкотриен-В4 и др. [16]. Доказано также, что в условиях резистивного дыхания усиленно сокращающиеся миоциты ДМ сами являются источниками продукции цитокинов. Так, у больных ХОБЛ в миоцитах диафрагмы и межреберных мышц происходит выраженное усиление экспрессии IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, TNF α и γ -интерферона (IFN γ) [1]. Показано, что избыточная продукция этих цитокинов связана с повреждением сарколеммы, а дисфункция ДМ тесно коррелирует с экспрессией TNF α [7]. Установлено, что даже у здоровых лиц через 45 минут дыхания с добавочной инспираторной нагрузкой происходит достоверное увеличение концентрации в плазме крови IL-1 β , IL-6 и TNF α [1]. Таким образом, резистивное дыхание рассматривается как «иммунный вызов» организму, который заключается в повышении локального и системного уровня цитокинов и их участия в повреждении ДМ. Вместе с тем роль иммунного фактора в развитии дисфункции ДМ у больных ХОБЛ до конца не изучена, и многие аспекты этой проблемы нуждаются в уточнении.

Цель исследования состояла в оценке роли цитокин-опосредованных механизмов в развитии дисфункции ДМ у больных ХОБЛ.

Материалы и методы

В исследование было включено 85 мужчин с ХОБЛ в стадии обострения, находившихся на лечении в Региональном пульмонологическом центре КГБУЗ «Приморская краевая клиническая больница № 1». Возраст обследованных был в диапазоне 39-78 лет (средний возраст – 64,5 \pm 2,3 года). Индекс курильщика (ИК) больных варьировал от 20 до 100 пачка/лет. Диагноз ХОБЛ устанавливали на основании критериев Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease – Глобальная стратегия диагностики, лечения и профилактики ХОБЛ (GOLD, 2017 год). Пациенты были ранжированы на 4 группы в зависимости от степени тяжести заболевания согласно классификации GOLD: GOLD I (n = 16), GOLD II (n = 30), GOLD III (n = 24) и GOLD IV (n = 15). Контрольную группу составили 48 здоровых некурящих мужчин того же возраста. Обследование выполнялось после подписания участниками информированного согласия. Комплексная оценка функционального статуса больных проводилась с использованием шкал Медицинского исследовательского центра (modified Medical Research Council – mMRC) и CAT (COPD Assessment Test), регистрации показателей внешнего дыхания и газометрических параметров артериальной крови.

Оценку силовых характеристик ДМ (MEP, MIP и SNIP) у пациентов выполняли на аппарате MicroRPM (CareFusion, Великобритания). Их

регистрация у обследуемых проводилась в положении сидя после трехкратного выполнения дыхательных маневров. При этом фиксировалась попытка с максимальным результатом. Должные величины для MEP, MIP и SNIP вычисляли по ранее разработанным регрессионным моделям [13]. Концентрацию цитокинов в сыворотке крови (TNF α , IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, IL-21, IFN γ и трансформирующего фактора роста- β – TGF- β) определяли методом проточной цитометрии на аппарате BD FACS Canto II (США) с помощью тест-системы этой компании. Данные обрабатывали с использованием программы FCAP Array 3.0.

Комплексный анализ взаимосвязей иммунных факторов и силовых индикаторов ДМ проводили методами канонического анализа (модуль Canonical Analysis в программе Statistica 6) и кластеризации К-средними [4]. Рассчитывали коэффициенты канонической (CR) и парной корреляции (r) по Пирсону.

Результаты

Результаты исследования показали, что уже при легкой форме ХОБЛ у большинства больных регистрируется достоверное снижение показателя MEP (на 21,1% по отношению к контролю), что может свидетельствовать о некотором ограничении кинетической энергии выдыхаемого воздуха, обусловленном дисфункцией экспираторных ДМ. При нарастании тяжести ХОБЛ величина MEP заметно снижалась, а ее уровень при крайне тяжелой форме заболевания был в 2 раза ниже контрольных значений. Сопоставление фактически измеренных величин MEP с должными показало, что степень их отклонения от персонифицированных нормативов зависит от тяжести заболевания. Так, при крайне тяжелом течении ХОБЛ уровень MEP составлял лишь 53,8% от должного, а при легком – 79,6%. Значение MIP при легкой форме ХОБЛ достоверно не отличалось от контроля и соответствовало должным величинам. Вместе с тем на более поздних стадиях заболевания сократительная функция инспираторных ДМ существенно ухудшалась. Так, при ХОБЛ средней тяжести уровень MIP по отношению к контролю снижался в 1,4 раза, а при крайне тяжелой – в 2,3 раза. При этом соотношение измеренных величин MIP с должными у больных с крайне тяжелой ХОБЛ составило 54,3%, а при среднетяжелой – 77,3%. На преобладание дисфункции экспираторных или инспираторных ДМ на различных стадиях заболевания указывает динамика индекса MEP/MIP. Так, при ХОБЛ легкой степени регистрировалась дисфункция только экспираторных мышц, что иллюстрировалось снижением данного индекса за счет сокращения величины MEP. Для среднетяжелой и тяжелой ХОБЛ было харак-

терным симметричное снижение МЕР и МІР, что демонстрировало ограничение функциональной активности обеих мышечных групп. При крайне тяжелом течении заболевания индекс МЕР/МІР достоверно возрастал по сравнению с контролем за счет более заметного снижения МІР. Эти изменения свидетельствовали о преобладании дисфункции инспираторных мышц. Уровень SNIP, так же как и МІР, у больных с легкой формой ХОБЛ достоверно не отличался от здоровых лиц. Однако при прогрессировании ХОБЛ отмечалось нарастающее сокращение величины данного показателя, которое достигало минимальных значений при крайне тяжелой форме заболевания. Схожая динамика фиксировалась и при сравнении измеренных величин SNIP с должными. Так, при ХОБЛ средней тяжести это соотношение составляло 75,1%, а при крайне тяжелой – 46,2%, что указывало на резкое ограничение функциональной активности диафрагмы.

Кластерный анализ позволил выделить 3 группы больных с характерными комбинациями индикаторов силы ДМ и иммунологических показателей (табл. 1). В первый кластер вошли 39 (46%) пациентов с ХОБЛ тяжелого и крайне тяжелого течения. Их цитокиновый профиль по сравнению с группой контроля отличался самыми высокими значениями TGF- β , TNF α , IL-17A и IL-21 на фоне неизменных по отношению к здоровым лицам уровней IL-4 и IL-6. При этом силовые индикаторы ДМ имели минимальные значения и были ниже, чем у здоровых лиц в 1,7-2 раза.

Второй кластер составили 23 (27%) пациентов с ХОБЛ среднетяжелого течения. Сравнительный анализ их цитокинового профиля с контролем показал умеренное повышение уровней TNF α , IL-21, TGF- β на фоне резкого подъема IL-6. Силовые индикаторы ДМ в этом кластере были ниже группы контроля в 1,4, 1,25 и 1,3 раза соответственно. В третий кластер вошли 23 (27%) пациента, 16 из которых было с легким течением ХОБЛ и 7 со среднетяжелым. Оценка их цитокинового профиля позволила установить максимальное возрастание уровней IFN γ , IL-6 и IL-10 при относительно низких значениях IL-17A, IL-21 и TGF- β по сравнению с больными первых двух кластеров. При этом показатели МЕР, МІР и SNIP достоверно не отличались от их уровня во втором кластере, но были достоверно ниже, чем в первом. Сопоставление фактически измеренных индикаторов силы ДМ с должными показало, что у больных первого кластера уровень показателей МЕР, МІР и SNIP составлял, соответственно, 62,6, 56,2 и 55,7% от ДВ, что указывало на значительное ограничение сократительной функции экспираторных и инспираторных ДМ. Абсолютные и относительные величины показателей силы ДМ во втором и третьем кластере были умеренно снижены и не отличались между собой.

Анализ парных корреляций показал, что между индикаторами силы ДМ и некоторыми цитокинами имеют место разнонаправленные взаимосвязи различной интенсивности. Так, показатель SNIP положительно коррелировал с IL-6 ($r = 0,62$; $p = 0,011$) и TGF- β ($r = 0,51$; $p = 0,016$) и отрицательно – с IL-17A ($r = -0,47$; $p = 0,021$), TNF α ($r = -0,67$; $p = 0,012$) и IL-21 ($r = -0,62$; $p = 0,017$). Уровень МЕР имел положительную взаимосвязь с TGF- β ($r = 0,49$; $p = 0,023$) и отрицательную – с IL-17A ($r = -0,44$; $p = 0,037$). Установлены также отрицательные корреляции МІР с IL-21 ($r = -0,58$; $p = 0,011$) и TNF α ($r = -0,52$; $p = 0,038$). Кроме того, положительные взаимосвязи регистрировались между IL-21 и TNF α и средними значениями баллов, характеризующих выраженность одышки в тесте mMRC и функциональный статус больных в САТ-тесте ($r_1 = 0,48$, $r_2 = 0,62$, $r_3 = 0,54$ и $r_4 = 0,42$; $p_1 = 0,013$, $p_2 = 0,027$, $p_3 = 0,032$ и $p_4 = 0,025$). Канонический анализ позволяет исследовать зависимость между двумя наборами переменных и применяется для проверки гипотез в различных областях знаний. Чем выше уровень CR, тем больший вклад вносят соответствующие переменные в результирующую взаимосвязь двух подмножеств анализируемых признаков [5]. В нашем исследовании была установлена тесная корреляция пула цитокинов с показателем SNIP (CR = +0,74; $p = 0,0025$), а также их взаимосвязи средней и слабой интенсивности с МЕР (CR = +0,6; $p = 0,048$) и МІР (CR = +0,31; $p = 0,048$), что указывает на неоднородность вклада иммунных факторов в патогенез нарушений сократительной функции отдельных групп ДМ. Полученные результаты свидетельствуют также об участии цитокин-опосредованных механизмов в ремоделировании ДМ и изменении их функционального статуса при прогрессировании ХОБЛ. С учетом однотипности процессов взаимодействия, кооперации и регуляции клеток иммунной системы можно судить о характере влияния этих факторов на сократительную функцию ДМ. Так, незначительное ее снижение развивалось на фоне максимальной концентрации в сыворотке крови IFN γ , IL-6 и IL-10, умеренное было сопряжено с высоким уровнем TGF- β , IL-6 и IL-21 и незначительным повышением IL-4, а выраженное ассоциировалось с резким подъемом TGF- β , TNF α , IL-17A и IL-21 при идентичном контролю уровне секреции IL-6.

Обсуждение

Сила ДМ является важнейшим индикатором их функционального состояния, а ее исследование получает все большее распространение в различных областях клинической медицины в качестве дополнительного инструмента для комплексной оценки респираторных функций. Снижение сократительной способности

ТАБЛИЦА 1. ПОКАЗАТЕЛИ СИЛЫ ДМ И КОНЦЕНТРАЦИИ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У БОЛЬНЫХ ХОБЛ В РАЗЛИЧНЫХ КЛАСТЕРАХ (M±m)

TABLE 1. INDICATORS OF RESPIRATORY MUSCLE STRENGTH AND SERUM CYTOKINE CONCENTRATIONS OF PATIENTS WITH VARIOUS CLUSTERS OF COPD (M±m)

Показатели Indicators	Группа контроля Control group (n = 48)	Кластеры Clusters			Достоверность Significance
		1 кластер 1 cluster (n = 39)	2 кластер 2 cluster (n = 23)	3 кластер 3 cluster (n = 23)	
MEP, см вод. ст. MEP, mm water column	132,7±8,4	71,6±2,2	93,8±7,9	97,4±4,1	$p_{1-2} < 0,0001$ $p_{1-3} < 0,0001$ $p_{2-3} = 0,54$
MEP, % от ДВ MEP, % proper values	104,5±4,6	62,6±3,2	74,7±4,2	79,6±5,5	$p_{0-1} < 0,0001$ $p_{0-2} < 0,0001$ $p_{0-3} < 0,0001$
MIP, см вод. ст. MIP, mm water column	98,5±4,9	49,6±3,4	79,1±5,8	85,1±2,5	$p_{1-2} > 0,0001$ $p_{1-3} < 0,0001$ $p_{2-3} = 0,37$
MIP, % от ДВ MIP, % proper values	103,2±7,2	56,2±4,7	78,3±6,3	91,3±7,2	$p_{0-1} < 0,0001$ $p_{0-2} = 0,0015$ $p_{0-3} = 0,034$
SNIP, см вод. ст. SNIP, mm water column	100,6±4,8	58,6±3,4	76,9±5,9	86,8±2,9	$p_{1-2} < 0,0001$ $p_{1-3} < 0,0001$ $p_{2-3} = 0,12$
SNIP, % от ДВ SNIP, % proper values	97,7±3,4	55,7±3,1	76,8±5,5	90,3±5,3	$p_{0-1} < 0,0001$ $p_{0-2} = 0,0027$ $p_{0-3} = 0,017$
IL-4, пг/мл IL-4, pg/ml	77,9±3,7	69,1±3,3	61,8±2,1	63,2±4,6	$p_{1-2} = 0,64$ $p_{1-3} = 0,074$ $p_{2-3} = 0,38$ $p_{0-1} = 0,062$ $p_{0-2} = 0,035$ $p_{0-3} = 0,042$
IL-6, пг/мл IL-6, pg/ml	38,2±1,2	30,8±3,3	61,4±5,6	65,8±3,2	$p_{1-2} < 0,0001$ $p_{1-3} < 0,0001$ $p_{2-3} = 0,15$ $p_{0-1} = 0,065$ $p_{0-2} < 0,0001$ $p_{0-3} < 0,0001$
IL-10, пг/мл IL-10, pg/ml	32,4±1,8	47,9±2,3	50,7±2,4	55,4±3,1	$p_{1-2} < 0,0001$ $p_{1-3} < 0,0001$ $p_{2-3} = 0,42$ $p_{0-1} = 0,0015$ $p_{0-2} < 0,0001$ $p_{0-3} < 0,0001$
TNFα, пг/мл TNF α , pg/ml	44,3±2,1	66,3±4,7	57,1±2,2	48,9±7,8	$p_{1-2} = 0,08$ $p_{1-3} = 0,074$ $p_{2-3} = 0,19$ $p_{0-1} < 0,0001$ $p_{0-2} < 0,0001$ $p_{0-3} = 0,24$
IFNγ, пг/мл IFN γ , pg/ml	103,5±4,9	124±6,3	126,4±6,2	152,9±8,1	$p_{1-2} = 0,027$ $p_{1-3} = 0,0011$ $p_{2-3} = 0,015$ $p_{0-1} = 0,0017$ $p_{0-2} = 0,021$ $p_{0-3} = 0,00026$

Показатели Indicators	Группа контроля Control group (n = 48)	Кластеры Clusters			Достоверность Significance
		1 кластер 1 cluster (n = 39)	2 кластер 2 cluster (n = 23)	3 кластер 3 cluster (n = 23)	
IL-17A, пг/мл IL-17A, pg/ml	378,4±20,2	502,3±26,4	415,3±14,9	389,8±23,2	p ₁₋₂ < 0,0001 p ₁₋₃ < 0,0001 p ₂₋₃ = 0,17 p ₀₋₁ = 0,0015 p ₀₋₂ = 0,056 p ₀₋₃ = 0,37
IL-21, пг/мл IL-21, pg/ml	75,5±3,6	191,3±17,1	125,1±17,3	100,7±12,3	p ₁₋₂ = 0,00078 p ₁₋₃ < 0,0001 p ₂₋₃ = 0,28 p ₀₋₁ < 0,0001 p ₀₋₂ < 0,0001 p ₀₋₃ = 0,0056
TGF-β, пг/мл TGF-β, pg/ml	150,0±6,7	237,0±12,7	184,1±9,9	168,6±8,6	p ₁₋₂ = 0,0013 p ₁₋₃ < 0,0001 p ₂₋₃ = 0,47 p ₀₋₁ = 0,0017 p ₀₋₂ = 0,037 p ₀₋₃ = 0,054

Примечание. Достоверность различий между кластерами: p₁₋₂ – первым и вторым; p₂₋₃ – вторым и третьим; p₁₋₃ – первым и третьим; p₀₋₁ – между группой контроля и первым кластером; p₀₋₂ – между группой контроля и вторым кластером; p₀₋₃ – между группой контроля и третьим кластером.

Note. Significance of differences in different clusters: p₁₋₂, first and second; p₂₋₃, second and third; p₁₋₃, first and third; p₀₋₁, control group and first cluster; p₀₋₂, control group and second cluster; p₀₋₃, control group and third cluster.

ДМ, проявляющееся их утомлением или слабостью, относят к важнейшим механизмам развития или усугубления дыхательной недостаточности у больных ХОБЛ [2]. Именно поэтому точная информация о функциональном статусе моторного аппарата органов дыхания является основой для ранней диагностики его нарушений и своевременной коррекции. Результаты наших исследований показали, что индикаторы силы экспираторных и инспираторных мышц тесно связаны со стадией ХОБЛ. Было установлено, что по мере ее прогрессирования происходит снижение абсолютных значений силы ДМ и увеличение степени их отклонения от должных величин, а минимальный уровень данных показателей фиксируется при крайне тяжелой форме заболевания. У больных с легкой формой ХОБЛ снижается сила только экспираторных мышц, а на более тяжелых стадиях заболевания развивается дисфункция инспираторных ДМ, включая диафрагму. При этом степень отклонения показателя SNIP от должных величин у больных первого кластера с крайне тяжелой и тяжелой формой ХОБЛ составляла 55,7%, что демонстрировало резкое ограничение функциональных ресурсов главного инспиратора. В ряде исследований было показано, что диафрагма более устойчива к утомлению, чем лестничные и грудно-ключично-сосцевидные мышцы. Однако на фоне первично развивающейся дисфункции вспомогательных ДМ и на-

растания добавочного сопротивления дыханию происходит увеличение нагрузки на диафрагму и ее утомление [14].

В формировании дисфункции ДМ важная роль принадлежит ХСВ, эффекты которого реализуются в том числе через спектр продуцируемых цитокинов [1]. Избыточная и генерализованная продукция провоспалительных цитокинов способствует развитию системных органочисловых дисфункций. Некоторые авторы используют термин «кахексия», имея в виду потерю белковой массы у больных ХОБЛ вследствие персистирующего воспалительного процесса, активирующегося основными провоспалительными цитокинами (TNFα, IL-17A и IL-21) [8]. IL-6 и IL-10, освобождаемые при сокращении скелетных мышц, создают системную противовоспалительную среду и оказывают эндокринное действие на метаболизм глюкозы и липидов, что оказывает энергетическую поддержку ДМ в условиях избыточной инспираторной нагрузки [11]. В нашей работе была выявлена зависимость функционального статуса ДМ от уровня секреции цитокинов, что подтверждалось результатами кластеризации, которая позволила выделить группы больных с характерными функционально-иммунологическими признаками. Так, например, у больных с крайне тяжелой и тяжелой ХОБЛ высокая концентрация TNFα, IL-17A и IL-21 и неизменный по отношению к контролю уровень секреции

IL-6 ассоциировались с более значительным ограничением силы ДМ. Результаты исследования свидетельствуют о том, что при нарастающем сопротивлении дыханию на различных этапах становления ХОБЛ у больных формируются определенные фенотипы респираторно-мышечной дисфункции, ассоциированные с различными вариантами иммунологических реакций, участвующих в процессах ограничения сократительной функции ДМ и их адаптации к хронической перегрузке респираторной системы. Наличие такой взаимосвязи подтверждалось результатами канонического и корреляционного анализа.

К ключевым цитокинам, вовлеченным в регуляцию дифференцировки Th-субпопуляций относят $IFN\gamma$ и $TNF\alpha$, что позволяет рассматривать их в качестве иммунорегуляторов, способных контролировать клональную экспансию и эффекторные функции Th-клеток и влиять на функциональную дифференцировку наивных $CD4$ T-клеток. Это главная часть адаптивного иммунного ответа, обеспечивающая активацию макрофагов и T-киллеров [8]. Наше исследование позволило установить взаимосвязь $IFN\gamma$ и $TNF\alpha$ с показателями силы ДМ. Основное влияние на реализацию воспалительной реакции оказывают цитокины, продуцируемые активированными моноцитами и макрофагами, в частности IL-6 и $TNF\alpha$, а также локальными клетками в очаге воспаления. Представленные в последние годы исследования свидетельствуют о том, что скелетные мышцы производят различные молекулы, деноминированные «миокины», которые действуют аутокринно, паракринно и эндокринно [10]. В ряде работ было показано, что наиболее важным миокином является IL-6, а его продукция — это ответ мышечной ткани на метаболический «запрос», инициированный физической нагрузкой [15]. Внутри скелетных мышц IL-6 активирует АМФ-активируемую протеинкиназу и фосфоинозитид-3-киназу, чтобы увеличить энергетические субстраты, необходимые для мышечного сокращения. В нашем исследовании секреция IL-6 статистически значимо увеличивалась среди пациентов с незначительным снижением силы ДМ и снижалась при выраженных формах их дисфункции. Во время интенсивной работы респираторных мышц IL-6 проявляет противовоспалительные эффекты, подавляя синтез IL-1 и $TNF\alpha$ и стимулируя продукцию IL-10 на локальном и системном уровнях [12]. Переключение баланса цитокинов в сторону

преобладания противовоспалительных медиаторов во многом обусловлено индукцией энергии моноцитов/макрофагов. Нами была установлена закономерность нарастания концентрации противовоспалительного миокина IL-10 у больных ХОБЛ: с легкими нарушениями сократительной функции ДМ его концентрация по отношению к контролю возрастала на 71%, со среднетяжелыми — на 56%, а с тяжелыми — на 48%. Продуцируемый моноцитами/макрофагами IL-10 оказывал прямое супрессорное действие на T-лимфоциты и маркеры активации миофибрилл, приводящих к структурно-функциональной перестройке респираторных мышц, вовлеченных в хронический воспалительный процесс при ХОБЛ.

Наше исследование позволило установить существенное возрастание уровня IL-17A среди больных с выраженной дисфункцией ДМ. Кроме того, к основным изменениям цитокинового профиля больных ХОБЛ можно было отнести увеличение $TNF\alpha$ и IL-10, которые могут перепрограммировать линию T-клеток, экспрессирующих IL-17A. У больных ХОБЛ с высоким содержанием IL-17A, IL-6, $TNF\alpha$ фиксировался относительно невысокий подъем $IFN\gamma$. В клетках Th17 образуется несколько цитокинов, включая IL-17A, IL-6, $TNF\alpha$ и IL-21. IL-17A индуцирует инфилльтрацию, привлечение и активацию нейтрофилов и рекрутирование макрофагов из очага поражения, вызывая системные эффекты при ХОБЛ, связанные в том числе с ремоделированием ДМ. В настоящее время считается, что иммунный ответ, развивающийся по Th17-типу является результатом длительного системного персистирующего воспаления [3].

Известно, что TGF- β является ингибитором высвобождения $TNF\alpha$ в систему гемокрикуляции, поэтому при увеличении синтеза $TNF\alpha$ закономерно активируется секреция TGF- β , что и происходит у пациентов со стойкими нарушениями функции ДМ. При этом концентрация TGF- β в системном кровотоке постепенно увеличивалась и была синхронизирована с выраженностью дисфункции ДМ. Полагают, что TGF- β является цитокином системного действия и является ключевым медиатором в процессах образования пенных клеток, воспаления, склероза и фиброгенеза [8]. Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о важной роли цитокин-опосредованных механизмов в развитии дисфункции ДМ у больных ХОБЛ, что необходимо учитывать при разработке программ персонализированной терапии.

Список литературы / References

1. Александрова Н.П. Цитокины и резистивное дыхание // Физиология человека, 2012. Т. 38, № 2. С. 119-129. [Aleksandrova N.P. Cytokines and resistive breathing. *Fiziologiya cheloveka = Human Physiology*, 2012, Vol. 38, no. 2, pp. 119-129.
2. Александрова Н.П., Бреслав И.С. Дыхательные мышцы человека: три уровня управления // Физиология человека, 2009. Т. 35, № 2. С. 103-111. [Aleksandrova N.P., Breslav I.S. Human respiratory muscles: Three levels of control. *Fiziologiya cheloveka = Human Physiology*, 2009, Vol. 35, no. 2, pp. 103-111.

3. Болдина М.В., Постникова Л.Б., Кубышева Н.И., Соодаева С.К. Участие провоспалительных цитокинов IL-17, IL-18 и TNF- α в развитии нарушений легочной и внутрисердечной гемодинамики при хронической обструктивной болезни легких // Пульмонология, 2014. Т. 1. С. 32-37. [Boldina M.V., Postnikova L.B., Kubysheva N.I., Soodaeva S.K. A role of proinflammatory cytokines IL-17, IL-18 and TNF- α in pulmonary and intracardiac haemodynamic disorders in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Pulmonologiya = Russian Pulmonology*, 2014, Vol. 1, pp. 32-37.]
4. Бююль А., Цёфель П. SPSS: искусство обработки информации, анализ статистических данных и восстановление скрытых закономерностей. СПб.: ООО «ДиаСофтЮП», 2002. 608 с. [Bühl A., Zöfel P. SPSS Version 10: Einführung in die moderne Datenanalyse unter Windows]. SBR. Addison-Wesley, 2000, p. 734.]
5. Ефимов В.М. Многомерный анализ биологических данных. 2015. [Efimov V.M. Multidimensional analysis of biological data]. 2015.
6. Barreiro E., Gea J. Respiratory and limb muscle dysfunction in COPD. *COPD*, 2014, Vol. 12, no. 4, pp. 413-426.
7. Dargelos E., Renaud V., Decossas M., Bure C., Lambert O., Poussard S. Caveolae-mediated effects of TNF- α on human skeletal muscle cells. *Exp. Cell Res.*, 2018, Vol. 370, no. 2, pp. 623-631.
8. de Troyer A., Wilson T.A. Effect of acute inflation on the mechanics of the inspiratory muscles. *J. Appl. Physiol.*, 2009, Vol. 107, no. 1, pp. 315-323.
9. Kaminska M., Noel F., Petrof B.J. Optimal method for assessment of respiratory muscle strength in neuromuscular disorders using sniff nasal inspiratory pressure (SNIP). *PLoS ONE*, 2017, Vol. 12, no. 5, e0177723. doi: 10.1371/journal.pone.0177723.
10. Keller C., Steensberg A., Pilegaard H., Osada T., Saltin B., Pedersen B.K., Neufer P.D. Transcriptional activation of the IL-6 gene in human contracting skeletal muscle: influence of muscle glycogen content. *FASEB J.*, 2001, Vol. 15, pp. 2748-2750.
11. Pedersen B.K., Febbraio M.A. Muscle as endocrine organ: focus on muscle-derived interleukin-6. *Physiol. Rev.*, 2008, Vol. 88, pp. 1379-1406.
12. Pratesi A., Tarantini F., di Bari M. Skeletal muscle: an endocrine organ. *Clin. Cases Miner. Bone Metab.*, 2013, Vol. 10, no. 1, pp. 11-14.
13. Rodrigues A., Silva M., Berton D., Faubert D., Tang J., Zapotichny A., Crozier-Wells L., Muir C., Forkert L., O'Donnell D., Neder J.A. Maximal inspiratory pressure: does the choice of reference values matter? *Clin. Physiol. Funct. Imaging*, 2016, Vol. 152, no. 1, pp. 32-39.
14. Sieck G.C., Ferreira L.F., Reid M.B., Mantilla C.B. Mechanical properties of respiratory muscles. *Compr. Physiol.*, 2013, Vol. 3, no. 4, pp. 1533-1567.
15. Tomlinson D.J., Erskine R.M., Morse C.I., Winwood K., Onambele-Pearson G. The impact of obesity on skeletal muscle strength and structure through adolescence to old age. *Biogerontology*, 2015, Vol. 17, no. 3, pp. 467-483.
16. Wang X.J. Lung function in patients with acute exacerbation and stable COPD and its correlation with serum proinflammatory cytokines and chemokines. *J. Hainan Med. University*, 2016, Vol. 22, no. 21, pp. 138-141.

Авторы:

Калинина Е.П. — д.м.н., департамент фундаментальной медицины Школы биомедицины ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет» Министерства науки и высшего образования РФ, г. Владивосток, Россия

Гельцер Б.И. — д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, директор департамента клинической медицины Школы биомедицины ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет» Министерства науки и высшего образования РФ, г. Владивосток, Россия

Курпатов И.Г. — аспирант департамента клинической медицины Школы биомедицины ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет» Министерства науки и высшего образования РФ, г. Владивосток, Россия

Горборукова Т.В. — доцент кафедры компьютерных систем Школы естественных наук ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет» Министерства науки и высшего образования РФ, г. Владивосток, Россия

Гвозденко Т.А. — д.м.н., профессор РАН, главный научный сотрудник лаборатории восстановительного лечения, Владивостокский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» — Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения, г. Владивосток, Россия.

Authors:

Kalinina E.P., PhD, MD (Medicine), Department of Fundamental Medicine, School of Biomedicine, Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation

Geltser B.I., PhD, MD (Medicine), Professor, Corresponding Member, Russian Academy of Sciences, Head, Department of Clinical Medicine, School of Biomedicine, Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation

Kurpatov I.G., Postgraduate Student, Department of Clinical Medicine, School of Biomedicine, Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation

Gorborukova T.V., Associate Professor, Department of Computer Systems, School of Natural Sciences, Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation

Gvozdenko T.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Chief Research Associate, Laboratory of Rehabilitation, Far Eastern Scientific Center of Respiratory Physiology and Pathology — Institute of Medical Climatology and Rehabilitation, Vladivostok, Russian Federation

Поступила 10.04.2018

Отправлена на доработку 29.10.2018

Принята к печати 25.12.2018

Received 10.04.2018

Revision received 29.10.2018

Accepted 25.12.2018