

УДК 615.27.015.4:612.017.1]:615.835.32
<https://doi.org/10.23888/HMJ2024124569-578>

Влияние антиоксидантов на реакции иммунитета в условиях дополнительного респираторного сопротивления

И. С. Ракитина ✉

Рязанский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова, Рязань, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Ракитина Ирина Сергеевна, rakitina62@gmail.com

АННОТАЦИЯ

Актуальность. Дополнительное респираторное сопротивление вызывает утомление дыхательных мышц и действует как иммунный стимул. Окислительный стресс, возникающий при работе дыхательной мускулатуры, входит в число потенциальных модуляторов иммунного ответа.

Цель. Изучить влияние антиоксидантов на реакции иммунитета в условиях дополнительного респираторного сопротивления.

Материалы и методы. 26 здоровых испытуемых выполнили два сеанса резистивного дыхания в течение 5 минут при 70% от максимального внутриротового давления (P_{тmax}) соответственно до и после введения антиоксидантов (витаминов E, A и C в течение 60 дней). Кровь брали до начала каждого сеанса резистивного дыхания и сразу после его завершения. Субпопуляции лимфоцитов определяли с помощью проточной цитометрии. Для определения показателей перекисного окисления липидов использовались биохимические методики.

Результаты. Резистивное дыхание сопровождалось ростом Т-лимфоцитов преимущественно за счет Т-хелперов, при этом существенно нарастала субпопуляция натуральных киллеров, а цитотоксическая фракция Т-лимфоцитов снижалась, обеспечивая значительный рост иммунорегуляторного индекса (CD4⁺/CD8⁺). Шестимесячный курс антиоксидантной терапии в виде комбинации витамина E, витамина A и витамина C достоверно уменьшает эффекты резистивного дыхания, влияющие на изменения субпопуляций лимфоцитов, снижает показатели перекисного окисления липидов (уровень свободных жирных кислот, гидроперекисей и малонового диальдегида) и повышает показатели антиокислительной активности (уровень каталаз и суммарная антиокислительная активность). Резистивное дыхание индуцирует изменения субпопуляций лимфоцитов посредством пути, зависящего от окислительного стресса.

Заключение. Инспираторное резистивное дыхание изменяет субпопуляции лимфоцитов периферической крови. Шестимесячный курс антиоксидантной терапии существенно смягчает изменения субпопуляций лимфоцитов, уменьшает показатели перекисного окисления липидов и повышает показатели антиокислительной активности. Окислительный стресс опосредует изменения субпопуляций лимфоцитов после резистивного дыхания.

Ключевые слова: дополнительное респираторное сопротивление; реакции иммунитета; антиоксидантная терапия

Для цитирования:

Ракитина И. С. Влияние антиоксидантов на реакции иммунитета в условиях дополнительного респираторного сопротивления // Наука молодых (Eruditio Juvenium). 2024. Т. 12, № 4. С. 569–578. <https://doi.org/10.23888/HMJ2024124569-578>.

<https://doi.org/10.23888/HMJ2024124569-578>

Effect of Antioxidants on Immune Responses under Conditions of Additional Respiratory Resistance

Irina S. Rakitina 

Ryazan Medical State University, Ryazan, Russian Federation

Corresponding author: Irina S. Rakitina, rakitina62@gmail.com

ABSTRACT

INTRODUCTION: Additional respiratory resistance causes fatigue of the respiratory muscles and acts as an immune stimulus. Oxidative stress associated with the work of respiratory muscles, is one of potential modulators of the immune response.

AIM: To study the effect of antioxidants on the immune response under conditions of additional respiratory resistance.

MATERIALS AND METHODS: Twenty-six healthy subjects performed two 5-min resistive breathing sessions at 70% of maximal mouth pressure (P_{max}) before and after administration of antioxidants (vitamins E, A, C within 60 days), respectively. Blood sampling was performed before each session of resistive breathing and immediately upon its completion. Subpopulations of lymphocytes were determined by flow cytometry. Lipid peroxidation indices were determined using biochemical methods.

RESULTS: Resistive breathing was accompanied by increase in T lymphocytes mainly due to T helper cells, upon that, the subpopulation of natural killer cells significantly increased, while cytotoxic fraction of T lymphocytes decreased providing a significant increase in the immunoregulatory index (CD4⁺/CD8⁺). A six-month course of antioxidant therapy in the form of a combination of vitamin E, vitamin A and vitamin C reliably reduced the effects of resistive breathing affecting changes in the subpopulations of lymphocytes, reduced the lipid peroxidation indices (levels of free fatty acids, hydroperoxides and malondialdehyde) and increased the antioxidant activity indices (levels of catalases and total antioxidant activity). Resistive breathing induced changes in the subpopulations of lymphocytes through an oxidative stress-dependent pathway.

CONCLUSION: Inspiratory resistive breathing causes changes in the subpopulations of peripheral blood lymphocytes. A six-month course of antioxidant therapy of lymphocytes significantly mitigates changes in the subpopulations of lymphocytes, reduces the lipid peroxidation indices and increases the antioxidant activity indices. Oxidative stress mediates changes in the subpopulations of lymphocytes after resistive breathing.

Keywords: *additional respiratory resistance; immune responses; antioxidant therapy*

For citation:

Rakitina I. S. Effect of Antioxidants on Immune Responses under Conditions of Additional Respiratory Resistance. *Science of the Young (Eruditio Juvenium)*. 2024;12(4):569–578. <https://doi.org/10.23888/HMJ2024124569-578>.

Актуальность

Резистивное дыхание встречается при обструктивных заболеваниях дыхательных путей, таких как бронхиальная астма и хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ), особенно во время обострений [1]. Дополнительное респираторное сопротивление (ДРС) представляет собой резистивную нагрузку на систему внешнего дыхания, и связано, прежде всего, с повышением работы дыхательных мышц. При достаточной нагрузке ДРС вызывает утомление дыхательных мышц, структурное повреждение диафрагмы и действует как иммунный стимул, инициируя активацию цитокинов в диафрагме [2] и в плазме [3]. В экспериментальных моделях на животных было показано, что ДРС вызывает воспаление и повреждение легких [4, 5].

Изменения количества лимфоцитов связаны с изменением иммунной системы после интенсивных мышечных нагрузок [6]. Активные формы кислорода (АФК), генерируемые во время интенсивных физических нагрузок, входят в число потенциальных модуляторов этого ответа [7], хотя их точная роль не установлена. Интенсивные физические нагрузки вызывают апоптоз лимфоцитов по АФК-зависимому пути [8]. Окислительный стресс может вызвать повреждение ДНК иммунокомпетентных клеток после длительных тренировок и напряженных упражнений. Тем не менее, антиоксидантные препараты не доказали влияния на индуцированную физической нагрузкой пролиферацию и активность субпопуляций лимфоцитов у тренированных спортсменов [9].

Свободные радикалы в форме АФК и активных форм азота образуются при повышенной сократительной активности инспираторных мышц, в основном диафрагмы [10]. Изменения иммунной системы под влиянием избыточной продукции окислительных производных при ХОБЛ являются активными областями исследований окислительного стресса, обусловленного легочным воспалением.

Цель. Изучить влияние антиоксидантов на реакции иммунитета в условиях

дополнительного респираторного сопротивления.

Материалы и методы

Были обследованы 26 здоровых добровольцев обоего пола, которые не занимались тяжелым физическим трудом, не болели бронхиальной астмой и другими респираторными заболеваниями в анамнезе, средний возраст испытуемых составил 22,4 года (19–27 лет). Они не участвовали в регулярных физических тренировках или спортивных мероприятиях и не имели лихорадочных заболеваний в течение 3 месяцев до или на протяжении всего исследования. Испытуемых проинструктировали воздерживаться от интенсивной физической активности или регулярных тренировок в течение периода исследования, не менять свой обычный режим питания и образ жизни. Раз в неделю каждый испытуемый посещал кафедру, его снабжали дозами антиоксидантов на 7 дней. Участники получали комбинацию антиоксидантов, включая 200 мг витамина Е, 50 000 МЕ витамина А и 1000 мг витамина С в день, в общей сложности в течение 60 дней. Антиоксиданты принимали в одной дозе утром во время завтрака.

Перед началом курса антиоксидантов и по его завершению (в первый и 60-й день исследования) проводили сеансы предъявления инспираторных резистивных дыхательных нагрузок. ДРС предъявлялось испытуемым в положении сидя. Мундштук был подогнан к Т-образному адаптеру, который через два односторонних клапана соединял дыхательные пути с портами вдоха и выдоха. Порт вдоха имел регулируемое сечение для создания ДРС, а порт выдоха оставляли без сопротивления. Жесткая трубка соединяла мундштук с мановакуумметром (WIKА 2-75, Польша) для измерения внутриротового давления, а к каналу выдоха подключались ультразвуковой спирометр Spiro Scout (Ganshorn Medizin Electronic GmbH, Германия) и спироанализатор Spirolab III SpO₂ (MIR, Италия). Максимальное внутриротовое давление (P_{rimax}) измеряли, когда испы-

туемый выполнял максимальное инспираторное усилие, вдыхая на уровне функциональной остаточной емкости при полностью перекрытом инспираторном порте. $P_{m\max}$ определялось наибольшим отрицательным внутриротовым давлением, которое можно было поддерживать в течение как минимум 1 секунды. Выполнялось несколько замеров усилия (до 5 раз после обучения выполнению маневра), и максимальное давление $P_{m\max}$ определялось по результатам маневра с наибольшим уровнем разрежения во рту. Маневры по определению $P_{m\max}$ были разнесены на 2 минуты, чтобы избежать эффекта потенцирования. Предварительные сеансы резистивного дыхания проводились для каждого испытуемого, чтобы подобрать величину сопротивления, необходимую для достижения инспираторного давления на уровне 70% от максимального внутриротового давления ($70\%P_{m\max}$). Чрезмерная одышка и чувство страха были критериями преждевременного прекращения сеанса. При проведении теста с ДРС испытуемые дышали в течение 5 мин. по собственному дыхательному паттерну (самостоятельно выбирая частоту и глубину дыханий). Во время выполнения сеанса резистивного дыхания контролировали парциальное давление кислорода и углекислого газа альвеолярного воздуха (PAO_2 , $PACO_2$); альвеолярную вентиляцию (VA); работу дыхания (W); рассчитывали сопротивление воздухоносных путей (R_{aw}) [11]. Венозная кровь забиралась из локтевой вены до и после сеанса резистивного дыхания. Образцы крови собирали в вакуумные стерильные пробирки со стабилизаторами для оценки клеточного состава крови и биохимических показателей (кровь использовали в течение 2 ч. после венепункции).

Для окрашивания клеток использовали флуоресцентно меченные моноклональные антитела производства Vecton & Dickinson (США) к маркерам клеточной поверхности, характерным для субпопуляций лимфоцитов. Подсчет проводили с помощью проточной цитометрии (Coulter Electronics, США). Мы измеряли абсо-

лютное и процентное содержание Т-клеток (CD3+), В-клеток (CD20+), НК-клеток (CD16+), Т-супрессорных клеток (CD8+), Т-хелперных клеток (CD4+).

Малоновый диальдегид, содержание жирных кислот, гидроперекисей, активность каталаз определяли с использованием реактивов «Beringer Mannheim» (Германия) на анализаторе PP-901 (Lab-systems, Финляндия).

Исследование одобрено Локальным комитетом по этике ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России (Протокол № 2 от 09.10.2018) и все испытуемые предоставили письменное информированное согласие.

Статистический анализ выполняли с помощью программы SigmaPlot 12.5 (Systat Software, Inc.). Изменения процентной доли субпопуляций лимфоцитов на отрезке времени «исходный уровень — окончание сеанса ДРС» сравнивали с помощью непараметрического дисперсионного анализа Фридмана (ANOVA). Исследуемые показатели в изо-временных точках до и после приема антиоксидантов сравнивали с помощью теста Уилкоксона. Значение p , равное 0,05, считалось статистически значимым и было соответствующим образом скорректировано с использованием процедуры Бонферрони для множественных сравнений. Результаты количественных признаков представлены в виде медианы, 1–3 квартиля (Me; Q_1 – Q_3).

Результаты

В таблице 1 приводятся показатели перекисного окисления липидов — антиокислительной системы (ПОЛ-АОС) в условиях воздействия ДРС $70\%P_{m\max}$ до и после курса антиоксидантов.

Как следует из представленных данных, резистивное дыхание $70\%P_{m\max}$ до, и после курса антиоксидантов сопровождалось ростом показателей ПОЛ (свободные жирные кислоты, гидроперекиси, малоновый диальдегид) и торможением показателей АОС (каталазы, антиокислительная активность). При этом обнаруживаются достоверные различия ($p < 0,05$) между показателями ПОЛ-АОС на фоне резистивного дыхания $70\%P_{m\max}$ до и

Таблица 1. Показатели ПОЛ-АОС в условиях воздействия дополнительного респираторного сопротивления до и после курса антиоксидантов

Параметры	Тест ДРС до курса антиоксидантов		Тест ДРС после курса антиоксидантов	
	Исходные значения	70%Pmmax	Исходные значения	70%Pmmax
Свободные жирные кислоты, ммоль/л	0,64 (0,58–0,71)	0,81 (0,75–0,87)	0,66 (0,60–0,74)	0,75* (0,62–0,79)
Гидроперекиси, Е/мл	1,57 (1,52–1,61)	2,19 (2,03–2,27)	1,45 (1,39–1,52)	1,92* (1,85–1,99)
Малоновый диальдегид плазмы, мкмоль/л	4,31 (4,16–4,47)	6,72 (6,69–6,76)	4,45 (4,32–4,58)	5,69* (5,43–5,82)
Каталазы, мкат/л	8,99 (8,76–9,10)	7,14 (7,03–7,22)	8,54 (8,37–8,69)	8,13* (7,98–8,21)
Антиокислительная активность, %	29,6 (26,8–32,7)	24,5 (21,0–27,4)	31,2 (28,4–34,1)	28,4* (25,8–30,7)

Примечания: данные представлены в виде медианы 1–3 квартиля (Me; Q₁–Q₃); *— $p < 0,05$ по сравнению с использованием 70%Pmmax до применения антиоксидантов

после применения антиоксидантов. Так, если концентрация свободных жирных кислот на фоне ДРС до применения антиоксидантов составляла 0,81 [0,58–0,71] ммоль/л, то после курса антиоксидантов — 0,75 [0,62–0,79] ммоль/л ($p < 0,05$). Концентрация гидроперекисей после ДРС до антиоксидантной терапии была 2,19 [2,03–2,27] Е/мл, после — 1,92 [1,85–1,99] Е/мл ($p < 0,05$). На фоне проведенного курса антиоксидантов отмечено снижение концентрации малонового диальдегида с 6,72 [6,69–6,76] мкмоль/л до 5,69 [5,43–5,82] мкмоль/л ($p < 0,05$). Показатели АОС на фоне резистивного дыхания после курса антиоксидантов, напротив повышались. Так, концентрация каталаз с 7,14 [7,03–7,22] мкат/л, после курса антиоксидантов повысилась до 8,13 [7,98–8,21] мкат/л ($p < 0,05$). Общая антиокислительная активность после ДРС до антиоксидантной терапии была на уровне 24,5 [21,0–27,4]%, после курса антиоксидантов она повысилась до 28,4 [25,8–30,7]% ($p < 0,05$).

В таблице 2 приводятся показатели клеточного и гуморального иммунитета в условиях воздействия ДРС 70%Pmmax до и после курса антиоксидантов.

Из данных, представленных в таблице 2, вытекает, что резистивное дыхание 70%Pmmax до использования курса

антиоксидантов сопровождалось ростом Т-лимфоцитов (CD3+) преимущественно за счет хелперной фракции (CD4+); при этом существенно нарастали натуральные киллеры НК (CD16+), а цитотоксическая фракция Т-лимфоцитов (CD8+) снижалась, обеспечивая значительный рост иммунорегуляторного индекса (CD4+/CD8+). Фракция В-лимфоцитов (CD20+) на фоне 70%Pmmax снижалась, при этом достоверных изменений в концентрации иммуноглобулинов (Ig G, A, M) не обнаруживается. Эти эффекты резистивного дыхания, как следует из данных таблицы 2, существенно смягчаются антиоксидантами. Так, если доля CD3+ на фоне ДРС до применения антиоксидантов составляла $1,51 [1,43–1,58] \times 10^9/\text{л}$, то после курса антиоксидантов — $1,40 [1,34–1,45] \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$). Количество НК на фоне ДРС до антиоксидантной терапии было $0,40 [0,37–0,43] \times 10^9/\text{л}$, после — $0,35 [0,32–0,38] \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$). На фоне проведенного курса антиоксидантов отмечено повышение числа Т-цитотоксических лимфоцитов с $0,24 [0,22–0,25] \times 10^9/\text{л}$ до $0,28 [0,26–0,29] \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$). Иммунорегуляторный индекс с $2,45 [2,32–2,63]\%$, после курса антиоксидантов снизился до $2,19 [2,03–2,29]\%$ ($p < 0,05$). Достоверного влияния курса антиокси-

дантной терапии на количество Т-хелперов и В-лимфоцитов в настоящем исследовании не установлено ($p > 0,05$).

Таблица 2. Показатели клеточного и гуморального иммунитета в условиях воздействия дополнительного респираторного сопротивления до и после курса антиоксидантов

Параметры	Тест ДРС до курса антиоксидантов		Тест ДРС после курса антиоксидантов	
	Исходные значения	70%Pmmax	Исходные значения	70%Pmmax
Ig G, г/л	9,58 (8,24–10,87)	9,73 (8,47–10,30)	9,43 (8,12–11,03)	10,15 (9,32–11,83)
Ig A, г/л	1,02 (0,92–1,16)	1,01 (0,87–1,12)	1,00 (0,88–1,13)	0,98 (0,83–1,08)
Ig M, г/л	0,13 (0,09–0,15)	0,12 (0,09–0,14)	0,14 (0,12–0,15)	0,13 (0,11–0,14)
Лимф. абс., 10^9 /л	1,63 (1,45–1,88)	1,74 (1,64–1,84)	1,58 (1,41–1,66)	1,69 (1,51–1,83)
Лимф. отн., %	24,5 (21,5–27,8)	26,99 (24,0–28,7)	24,2 (23,8–25,6)	26,02 (25,4–28,2)
Лим. эффекторы, 10^9 /л (CD3 ⁺)	1,28 (1,07–1,39)	1,51 (1,43–1,58)	1,27 (1,23–1,30)	1,40* (1,34–1,45)
Лим. эффекторы, % (CD3 ⁺)	78,52 (73,6–81,5)	87,0 (85,1–91,4)	77,03 (76,1–80,6)	82,73* (79,9–84,3)
Лим. хелперы, 10^9 /л (CD4 ⁺)	0,48 (0,46–0,50)	0,59 (0,57–0,62)	0,50 (0,48–0,53)	0,57 (0,55–0,59)
Лим. хелперы, % (CD4 ⁺)	48,16 (45,3–50,1)	33,90 (31,7–35,6)	31,64 (29,2–33,1)	33,72 (30,3–35,3)
Цитотоксические лимф., 10^9 /л (CD8 ⁺)	0,31 (0,30–0,32)	0,24 (0,22–0,25)	0,30 (0,29–0,32)	0,28* (0,26–0,29)
Цитотоксические лимф., % (CD8 ⁺)	19,01 (17,7–21,4)	13,79 (11,9–14,2)	18,98 (16,2–21,2)	16,38* (13,2–17,3)
Иммунорег. индекс (CD4 ⁺)/(CD8 ⁺)	1,54 (1,48–1,58)	2,45 (2,32–2,63)	1,66 (1,48–1,80)	2,19* (2,03–2,29)
Натуральные киллеры, 10^9 /л (CD16 ⁺)	0,25 (0,23–0,27)	0,40 (0,37–0,43)	0,28 (0,27–0,3)	0,35* (0,32–0,38)
Натуральные киллеры, % (CD16 ⁺)	15,81 (13,7–17,5)	23,2 (16,3–20,1)	16,22 (14,9–17,8)	20,8* (16,2–19,0)
В-лимф., 10^9 /л (CD20 ⁺)	0,21 (0,19–0,23)	0,15 (0,13–0,17)	0,20 (0,18–0,21)	0,16 (0,14–0,17)
В-лимф., % (CD20 ⁺)	12,88 (10,3–14,0)	8,62 (7,12–9,32)	15,74 (13,3–17,8)	12,50 (9,23–14,1)

Примечания: медианные значения 1–3 квартиля (Me; Q₁–Q₃); * — $p < 0,05$ по сравнению с использованием 70%Pmmax до применения антиоксидантов

Обсуждение

Основным выводом нашего исследования является то, что вызываемые ДРС значительные изменения в субпопуляциях лимфоцитов периферической крови, смягчаются антиоксидантами при резистивном дыхании. По нашему мнению, это связано с уменьшением окислительного стресса, возникающего при резистивном дыхании. Связь между нагрузкой на дыхательные

мышцы и окислительным стрессом подтверждена рядом исследований [12, 13]. Работающие мышцы считаются основным источником продуктов окисления (утечка электронов из митохондрий, оксидазы, миостатин, фосфолипаза А2 и др.), но не единственным [14]. Повреждение мышц, вызванное резистивной нагрузкой, может активировать за счет продукции цитокинов (IL-1 β , TNF- α) нейтрофилы и макро-

фаги, клетки, способные продуцировать большое количество АФК посредством окислительного взрыва, их собственного защитного механизма [15]. Эндотелиальные клетки и катехоламины также участвуют в образовании АФК. Производные окислительного стресса являются регуляторами клеточной функции и сигнальными молекулами, интегрированными в сократительный процесс [14]. Окислительный стресс является стимулом для индукции цитокинов после IRB13 и WBE19, АФК стимулируют продукцию IL-6 скелетными мышечными трубками [16].

Применение антиоксидантов доказало свою эффективность в ослаблении реакции цитокинов плазмы после резистивного дыхания [5]. Обоснование состава смеси тщательно проанализировано в работе [17]. Витамин Е является эффективным жирорастворимым поглотителем свободных радикалов, защищающим биомембраны, в то время как витамин С является водорастворимым антиоксидантом, который вместе с витамином А может непосредственно удалять синглетный кислород, супероксид и гидроксильные радикалы как во внутри-, так и во внеклеточной жидкости. Смесь была эффективна в снижении перекисного окисления липидов, о чем свидетельствует снижение уровня свободных жирных кислот, гидроперекисей и малонового диальдегида, обнаруженное после резистивного дыхания на фоне курса антиоксидантов. Мы использовали комбинацию антиоксидантов, исходя из того, что в клетках существует множество механизмов и источников окислительного стресса; таким образом, маловероятно, что один антиоксидант будет эффективным. Мы выбрали относительно длительный период введения, исходя из того, что некоторым антиоксидантам, таким как витамин Е, требуется длительное время для включения в мембраны. По литературным данным концентрация витамина Е в плазме достигала пиковых значений после 15 дней приема и сохранялась на этом плато в течение следующих 15 дней, а концентрация каротино-

идов в сыворотке достигла пика через 24–48 ч. после однократной дозы и возвращалась к исходному уровню через 7 дней [18]. Другие исследователи, которые использовали только один антиоксидант для уменьшения окислительного стресса, не смогли добиться изменений в субпопуляциях лимфоцитов [11]. Мы использовали именно нетренированных здоровых добровольцев, а не спортсменов, у которых наблюдается повышенная антиоксидантная способность после тренировок [18]. Наши результаты предполагают, что зависимый от окислительного стресса механизм регулирует перераспределение лимфоцитов во время резистивного дыхания и, возможно, при обструктивных заболеваниях легких.

Механизмы, с помощью которых окислительный стресс может регулировать перераспределение лимфоцитов во время ДРС, мало изучены и не являлись предметом данного исследования. Тем не менее, некоторые предположения стоит сделать. Миграция лимфоцитов в лимфоидные и нелимфоидные органы и из них предполагает ступенчатое взаимодействие с эндотелием, контролируемое хемокинами. Миграция через эндотелий включает захват и перекачивание на стенке сосуда, опосредованное в первую очередь селектинами и интегринами (перекачивание и адгезия). Активация и трансэндотелиальная миграция опосредованы молекулами адгезии, которые присутствуют в мембранах лимфоцитов и эндотелиальных клеток, молекулой внутриклеточной адгезии-1 (ICAM-1) и молекулой внутриклеточной адгезии-1 сосудов (VCAM-1) [6]. IL-6, TNF- α и IL-1 β , три цитокина, которые исчезают после добавления антиоксидантов в рацион перед сеансом резистивного дыхания [13].

Таким образом, можно предположить, что IL-6, TNF- α и IL-1 β ускоряют миграцию лимфоцитов независимо от стрессовой нейрогормональной стимуляции посредством активации хемокинов адгезии, которые необходимы для трансэндотелиальной миграции лимфоцитов. В нашем эксперименте добавление

антиоксидантов могло снижать вызванное ДРС высвобождение цитокинов и, следовательно, перераспределение лимфоцитов.

Мы использовали ДРС в качестве модели для выделения эффектов активации дыхательных мышц, при этом потенциальный источник иммунного ответа, наблюдаемого во время резистивного дыхания, может быть связан с метаболическим рефлексом (утомлением) дыхательных мышц. В нашем исследовании мы стремились избежать утомления диафрагмы во время сеанса резистивного дыхания. Для этого, даже с высоким целевым значением внутриротового давления (70% P_{max}), мы ограничивали время резистивного дыхания 5 минутами, а испытуемых инструктировали дышать по их собственной схеме с удобной частотой дыхания и соотношением времени вдоха и выдоха с использованием всех дыхательных мышц, а не только диафрагмы.

Выводы

1. Резистивное дыхание сопровождалось ростом Т-лимфоцитов преимущественно за счет хелперной фракции, при

этом существенно нарастала субпопуляция натуральных киллеров, а цитотоксическая фракция Т-лимфоцитов снижалась, обеспечивая значительный рост иммунорегуляторного индекса (CD4⁺/CD8⁺).

2. Достоверных изменений в концентрации иммуноглобулинов (Ig G, A, M) на фоне резистивного дыхания не обнаруживается.

3. Эффекты резистивного дыхания, влияющие на изменения субпопуляций лимфоцитов, существенно смягчаются антиоксидантами.

4. Шестимесячный курс антиоксидантной терапии в виде комбинации витамина Е, витамина А и витамина С достоверно уменьшает показатели перекисного окисления липидов (уровень свободных жирных кислот, гидроперекисей и малонового диальдегида) и повышает показатели антиокислительной активности (уровень каталаз и суммарная антиокислительная активность).

5. Резистивное дыхание индуцирует изменения субпопуляций лимфоцитов посредством пути, зависящего от окислительного стресса.

Список источников

1. Barnes P.J. Oxidative Stress in Chronic Obstructive Pulmonary Disease // *Antioxidants* (Basel). 2022. Vol. 11, No. 5. P. 965. doi: [10.3390/antiox11050965](https://doi.org/10.3390/antiox11050965)
2. Sigala I., Zacharatos P., Boulika S., et al. Nitric oxide regulates cytokine induction in the diaphragm in response to inspiratory resistive breathing // *J. Appl. Physiol.* (1985). 2012. Vol. 113, No. 10. P. 1594–1603. doi: [10.1152/jappphysiol.00233.2012](https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00233.2012)
3. Villamil-Parra W., Cristancho-Mejía E., Torrella J.R., et al. Factor 1 inducible por hipoxia y enfermedad pulmonar obstructiva crónica: respuestas epigenéticas al ejercicio físico. Revisión sistemática [Hypoxia-inducible factor 1 and chronic obstructive pulmonary disease: Epigenetic responses to physical exercise. Systematic review] // *Fisioterapia*. 2021. Vol. 44, No. 13. P. 173–183. doi: [10.1016/j.ft.2021.10.002](https://doi.org/10.1016/j.ft.2021.10.002)
4. Toumpanakis D., Kastis G.A., Zacharatos P., et al. Inspiratory resistive breathing induces acute lung injury // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2010. Vol. 182, No. 9. P. 1129–1136. doi: [10.1164/rccm.201001-0116OC](https://doi.org/10.1164/rccm.201001-0116OC)
5. Loverdos K., Toumpanakis D., Litsiou E., et al. The differential effects of inspiratory, expiratory, and combined resistive breathing on healthy lung // *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2016. Vol. 11. P. 1623–1638. doi: [10.2147/COPD.S106337](https://doi.org/10.2147/COPD.S106337)
6. Li R., Kang H., Chen S. From Basic Research to Clinical Practice: Considerations for Treatment Drugs for Silicosis // *Int. J. Mol. Sci.* 2023. Vol. 24, No. 9. P. 8333–8352. doi: [10.3390/ijms24098333](https://doi.org/10.3390/ijms24098333)
7. Krüger K., Mooren F.C. Exercise-induced leukocyte apoptosis // *Exerc. Immunol. Rev.* 2014. Vol. 20. P. 117–134.
8. Bagni M.A., Colombini B., Nocella M., et al. The effects of fatigue and oxidation on contractile function of intact muscle fibers and myofibrils isolated from the mouse diaphragm // *Sci. Rep.* 2019. Vol. 9, No. 1. P. 4422. doi: [10.1038/s41598-019-39353-5](https://doi.org/10.1038/s41598-019-39353-5)
9. Urban M.H., Mayr A.K., Schmidt I., et al. Induction of dynamic hyperinflation by expiratory resistance breathing in healthy subjects — an efficacy and safety study // *Exp. Physiol.* 2021. Vol. 106, No. 2. P. 532–543. doi: [10.1113/ep088439](https://doi.org/10.1113/ep088439)
10. Vassilakopoulos T., Hussain S.N.A. Ventilatory muscle activation and inflammation: cytokines, reactive oxygen species, and nitric oxide // *J. Appl.*

- Physiol. (1985). 2007. Vol. 102, No. 4. P. 1687–1695. doi: [10.1152/jappphysiol.01273.2006](https://doi.org/10.1152/jappphysiol.01273.2006)
11. Бяловский Ю.Ю., Ракитина И.С. Патфизиологические механизмы резистивного дыхания // Российский медико-биологический вестник имени академика И. П. Павлова. 2021. Т. 29, № 2. С. 219–226. doi: [10.17816/PAVLOVJ34788](https://doi.org/10.17816/PAVLOVJ34788)
 12. Fernández-Lázaro D., Gallego-Gallego D., Corchete L.A., et al. Inspiratory Muscle Training Program Using the PowerBreath®: Does It Have Ergogenic Potential for Respiratory and/or Athletic Performance? A Systematic Review with Meta-Analysis // Int. J. Environ. Res. Public Health. 2021. Vol. 18, No. 13. P. 6703. doi: [10.3390/ijerph18136703](https://doi.org/10.3390/ijerph18136703)
 13. Ferreira L.F., Reid M.B. Muscle-derived ROS and thiol regulation in muscle fatigue // J. Appl. Physiol. (1985). 2008. Vol. 104, No. 3. P. 853–860. doi: [10.1152/jappphysiol.00953.2007](https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00953.2007)
 14. Steinbacher P., Eckl P. Impact of oxidative stress on exercising skeletal muscle // Biomolecules. 2015. Vol. 5, No. 2. P. 356–377. doi: [10.3390/biom5020356](https://doi.org/10.3390/biom5020356)
 15. Bazan-Socha S., Wójcik K., Olchawa M., et al. Increased Oxidative Stress in Asthma—Relation to Inflammatory Blood and Lung Biomarkers and Airway Remodeling Indices // Biomedicines. 2022. Vol. 10, No. 7. P. 1499. doi: [10.3390/biomedicines10071499](https://doi.org/10.3390/biomedicines10071499)
 16. Reid M.B. Reactive Oxygen Species as Agents of Fatigue // Med. Sci. Sports Exerc. 2016. Vol. 48, No. 11. P. 2239–2246. doi: [10.1249/mss.0000000000001006](https://doi.org/10.1249/mss.0000000000001006)
 17. Cipollina C., Bruno A., Fasola S., et al. Cellular and Molecular Signatures of Oxidative Stress in Bronchial Epithelial Cell Models Injured by Cigarette Smoke Extract // Int. J. Mol. Sci. 2022. Vol. 23, No. 3. P. 1770–1783. doi: [10.3390/ijms23031770](https://doi.org/10.3390/ijms23031770)
 18. Marotta F., Arunachalam J., Banerjee A., et al. Oxidative Stress and Smoke-Related Lung Diseases: A Tentative Approach Through the Blood, Lungs, and Gut. In: Chakraborti S., Chakraborti T., Das S., et al., editors. Oxidative Stress in Lung Diseases. Springer Singapore; 2019. Vol. 1. P. 27–50. doi: [10.1007/978-981-13-8413-4_2](https://doi.org/10.1007/978-981-13-8413-4_2)

References

1. Barnes PJ. Oxidative Stress in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Antioxidants (Basel)*. 2022; 11(5):965. doi: [10.3390/antiox11050965](https://doi.org/10.3390/antiox11050965)
2. Sigala I, Zacharatos P, Bouliou S, et al. Nitric oxide regulates cytokine induction in the diaphragm in response to inspiratory resistive breathing. *J Appl Physiol (1985)*. 2012;113(10):1594–603. doi: [10.1152/jappphysiol.00233.2012](https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00233.2012)
3. Villamil-Parra W, Crisanchó-Mejía É, Torrella JR, et al. Factor 1 inducible por hipoxia y enfermedad pulmonar obstructiva crónica: respuestas epigenéticas al ejercicio físico. Revisión sistemática [Hypoxia-inducible factor 1 and chronic obstructive pulmonary disease: Epigenetic responses to physical exercise. Systematic review]. *Fisioterapia*. 2021; 44(13):173–83. (In Spanish). doi: [10.1016/j.ft.2021.10.002](https://doi.org/10.1016/j.ft.2021.10.002)
4. Toumpanakis D, Kastis GA, Zacharatos P, et al. Inspiratory resistive breathing induces acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med*. 2010;182(9):1129–36. doi: [10.1164/rccm.201001-0116OC](https://doi.org/10.1164/rccm.201001-0116OC)
5. Loverdos K, Toumpanakis D, Litsiou E, et al. The differential effects of inspiratory, expiratory, and combined resistive breathing on healthy lung. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2016;11:1623–38. doi: [10.2147/COPD.S106337](https://doi.org/10.2147/COPD.S106337)
6. Li R, Kang H, Chen S. From Basic Research to Clinical Practice: Considerations for Treatment Drugs for Silicosis. *Int J Mol Sci*. 2023;24(9):8333–52. doi: [10.3390/ijms24098333](https://doi.org/10.3390/ijms24098333)
7. Krüger K, Mooren FC. Exercise-induced leukocyte apoptosis. *Exerc Immunol Rev*. 2014;20:117–34.
8. Bagni MA, Colombini B, Nocella M, et al. The effects of fatigue and oxidation on contractile function of intact muscle fibers and myofibrils isolated from the mouse diaphragm. *Sci Rep*. 2019;9(1):4422. doi: [10.1038/s41598-019-39353-5](https://doi.org/10.1038/s41598-019-39353-5)
9. Urban MH, Mayr AK, Schmidt I, et al. Induction of dynamic hyperinflation by expiratory resistance breathing in healthy subjects—an efficacy and safety study. *Exp Physiol*. 2021;106(2):532–43. doi: [10.1113/ep088439](https://doi.org/10.1113/ep088439)
10. Vassilakopoulos T, Hussain SNA. Ventilatory muscle activation and inflammation: cytokines, reactive oxygen species, and nitric oxide. *J Appl Physiol (1985)*. 2007;102(4):1687–95. doi: [10.1152/jappphysiol.01273.2006](https://doi.org/10.1152/jappphysiol.01273.2006)
11. Byalovsky YuYu, Rakitina IS. Pathophysiological mechanisms of resistive breathing. *I. P. Pavlov Russian Medical Biological Herald*. 2021;29(2):219–26. (In Russ). doi: [10.17816/PAVLOVJ34788](https://doi.org/10.17816/PAVLOVJ34788)
12. Fernández-Lázaro D, Gallego-Gallego D, Corchete LA, et al. Inspiratory Muscle Training Program Using the PowerBreath®: Does It Have Ergogenic Potential for Respiratory and/or Athletic Performance? A Systematic Review with Meta-Analysis. *Int J Environ Res Public Health*. 2021;18(13):6703. doi: [10.3390/ijerph18136703](https://doi.org/10.3390/ijerph18136703)
13. Ferreira LF, Reid MB. Muscle-derived ROS and thiol regulation in muscle fatigue. *J Appl Physiol (1985)*. 2008;104(3):853–60. doi: [10.1152/jappphysiol.00953.2007](https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00953.2007)
14. Steinbacher P, Eckl P. Impact of oxidative stress on exercising skeletal muscle. *Biomolecules*. 2015; 5(2):356–77. doi: [10.3390/biom5020356](https://doi.org/10.3390/biom5020356)
15. Bazan-Socha S, Wójcik K, Olchawa M, et al. Increased Oxidative Stress in Asthma—Relation to Inflammatory Blood and Lung Biomarkers and Airway Remodeling Indices. *Biomedicines*. 2022; 10(7):1499. doi: [10.3390/biomedicines10071499](https://doi.org/10.3390/biomedicines10071499)
16. Reid MB. Reactive Oxygen Species as Agents of Fatigue. *Med Sci Sports Exerc*. 2016;48(11):2239–46. doi: [10.1249/mss.0000000000001006](https://doi.org/10.1249/mss.0000000000001006)

17. Cipollina C, Bruno A, Fasola S, et al. Cellular and Molecular Signatures of Oxidative Stress in Bronchial Epithelial Cell Models Injured by Cigarette Smoke Extract. *Int J Mol Sci.* 2022; 23(3):1770–83. doi: [10.3390/ijms23031770](https://doi.org/10.3390/ijms23031770)
18. Marotta F, Arunachalam J, Banerjee A, et al. Oxi-

dativе Stress and Smoke-Related Lung Diseases: A Tentative Approach Through the Blood, Lungs, and Gut. In: Chakraborti S, Chakraborti T, Das S, et al., editors. *Oxidative Stress in Lung Diseases.* Springer Singapore; 2019. Vol. 1. P. 27–50. doi: [10.1007/978-981-13-8413-4_2](https://doi.org/10.1007/978-981-13-8413-4_2)

Дополнительная информация

Финансирование. Автор заявляет об отсутствии финансирования при проведении исследования.

Этика. Использованы данные пациента в соответствии с письменным информированным согласием.

Информация об авторе:

✉ *Ракитина Ирина Сергеевна* — канд. мед. наук, доцент кафедры патофизиологии, SPIN: [8427-9471](https://orcid.org/0000-0002-9406-1765), <https://orcid.org/0000-0002-9406-1765>, e-mail: rakitina62@gmail.com

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Funding. The author declares no funding for the study.

Ethics. The data is used in accordance with the informed consent of patient.

Information about the author:

✉ *Irina S Rakitina* — MD, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor of the Department of Pathophysiology, SPIN: [8427-9471](https://orcid.org/0000-0002-9406-1765), <https://orcid.org/0000-0002-9406-1765>, e-mail: rakitina62@gmail.com

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interests.