

УДК: 616-092.6

Ю.Ю. Бяловский, И.С. Ракитина, Ю.В. Абаленихина, А.В. Шулькин**ВЛИЯНИЕ ДОПОЛНИТЕЛЬНОГО РЕСПИРАТОРНОГО СОПРОТИВЛЕНИЯ НА УРОВЕНЬ СИГНАЛЬНЫХ БЕЛКОВ HIF-1 α , Nrf2 и NF- κ B У ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ**

ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
г. Рязань, Российская Федерация

Резюме. Данных о влиянии дополнительного респираторного сопротивления (ДРС) на индукцию воспаления и окислительного стресса у здорового человека немного. **Цель исследования** заключалась в изучении влияния резистивного дыхания в условиях разной величины дополнительного респираторного сопротивления на уровень сигнальных белков HIF-1 α , Nrf2 и NF- κ B у здоровых людей. **Методика.** В качестве испытуемых выступали 24 практически здоровых участника (13 мужчин и 11 женщин), средний возраст 22,9 \pm 2,7 года. Согласно программе исследований, испытуемые дышали либо без ДРС (свободное дыхание), либо в режиме резистивного дыхания (20 минут с резистивными нагрузками, эквивалентными 40% и 60%P_{тmax}). Измеряли кардиореспираторные и перцептивные реакции участников до и после 20 минутного резистивного дыхания с разными величинами ДРС. До и после предъявления ДРС из локтевой вены через постоянную канюлю отбирали 10 мл венозной крови. Методом вестерн-блот в лизате лейкоцитов оценивали относительное количество сигнальных белков HIF-1 α , Nrf2 и NF- κ B. **Результаты:** максимальное давление вдоха после 20 минут резистивного дыхания с ДРС 40 и 60%P_{тmax} существенно увеличивалось (p<0,01 и p<0,001 соответственно) относительно свободного дыхания. Достоверный рост отмечался в отношении восприятия ДРС по шкале Борга на 40 и 60%P_{тmax} (p<0,05). Рабочий цикл TI/T достоверно увеличивался (p<0,05) на 60%P_{тmax}. Резистивное дыхание не вызывало достоверных изменений вентиляционных показателей (VE, л/мин и VT, л) и газового состава организма (SpO₂,% и P_{ET}CO₂, мм.рт.ст., p>0,05). 20-ти минутное резистивное дыхание на ДРС 40%P_{тmax} и 60%P_{тmax} не вызывало достоверных изменений уровня сигнальных белков HIF-1 α , Nrf2 и NF- κ B. **Заключение:** резистивное дыхание вызывает повышение энергетики дыхательных мышц и сопровождается увеличением одышки по шкале Борга относительно незатрудненного дыхания. В условиях 20-минутного резистивного дыхания формируется изовентиляторная перестройка дыхательного паттерна, которая обеспечивает сохранение газового гомеостаза. Резистивное дыхание 40% и 60%P_{тmax} не вызывало достоверных изменений уровня исследуемых сигнальных белков HIF-1 α , Nrf2 и NF- κ B в цитоплазматической фракции гомогената лейкоцитов.

Ключевые слова: дополнительное респираторное сопротивление, сигнальные белки HIF-1 α , Nrf2 и NF- κ B

Конфликт интересов отсутствует.

Контактная информация автора, ответственного за переписку:

Бяловский Юрий Юльевич

b_uu@mail.ru

Дата поступления: 06.09.2024

Образец цитирования: Бяловский Ю.Ю., Ракитина И.С., Абаленихина Ю.В., Шулькин А.В. Влияние дополнительного респираторного сопротивления на уровень сигнальных белков HIF-1 α , Nrf2 и NF- κ B у здоровых людей. [Электронный ресурс] Вестник уральской медицинской академической науки. 2024, Том 21, № 5, с. 607–620, DOI: 10.22138/2500-0918-2024-21-5-607-620

Актуальность

Резистивное дыхание (дыхание при повышении сопротивления дыхательных путей) является отличительной чертой наиболее распространенных легочных заболеваний, таких как хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) и бронхиальная астма. При тяжелых обострениях эти заболевания часто завершаются дыхательной недостаточностью с увеличением заболеваемости и смертности. При ХОБЛ воспаление дыхательных путей приводит к вариабельному сужению дыхательных путей посредством различных механизмов, таких как гиперсекреция слизи, гиперплазия бокаловидных клеток, отек слизистой оболочки, активация цитокинов [1] и воспаление, а также разрушение альвеол (эмфизема), что приводит к потере эластической растягивающей тяги на дистальные дыхательные пути [2, 3]. Во время обострения ХОБЛ провоцирующий фактор (инфекции, загрязнение воздуха и др. [4]) усиливает воспаление, что увеличивает отек слизистой дыхательных путей и через высвобождение медиаторов, которые могут вызвать сокращение гладких мышц, приводит к бронхоспазму, что еще больше увеличивает сопротивление дыхательных путей. Эта последовательность событий часто завершается как гиперкапнической, так и гипоксической дыхательной недостаточностью.

Во время резистивного дыхания инспираторные мышцы сильно сокращаются, обеспечивая вентиляцию, что приводит к возникновению значительного уровня отрицательного внутригрудного давления во время вдоха. Как интенсивные мышечные сокращения, так и высокое отрицательное внутригрудное давление приводят к механическому стрессу в клетках, находящихся в диафрагме и легких соответственно. Этот механический стресс может привести к повреждению как диафрагмы, так и легкого либо счет за прямых «разрывающих» сил [5], либо за счет механотрансдукции (т.е. трансформации механического растяжения во внутриклеточную каскадную активацию [6], включая формирование окислительного стресса [7]).

Окислительный стресс является важным патофизиологическим механизмом развития ХОБЛ через инициацию хронического воспаления, ремоделирование паренхимы легких и усиление гипоксемии [8]. Показано, что окислительный стресс при ХОБЛ связан главным образом с экспрессией белков NIF-1 α , сигнальным каскадом НАДФН-оксидазы (NOX)4-Nrf2 и сигнальным путем NF- κ B [9]. Фактор 1 α , индуцируемый гипоксией (NIF-1 α), является основной регуляторной молекулой, участвующей в различных механизмах, возникающих в результате низкого парциального давления кислорода (PO₂). NIF-1 α запускает несколько ответов на гипоксию, регулируя экспрессию ряда генов, которые влияют на процессы синтеза белка, связанные, среди прочего, с ангиогенезом, эритропоэзом и метаболической регуляцией [10, 11].

Ядерный фактор, родственник эритропоэтину-2 (Nrf2), представляет собой белок, обнаруженный во всех клетках человеческого организма. Он активируется, переносится в ядро и связывается с ДНК элементами антиоксидантного ответа. Будучи регулятором антиоксидантной системы, он усиливает экспрессию гемоксигеназы-1, снижая окислительный стресс. Активируемые Nrf2 метаболиты, включая Fe²⁺ и биливердин, могут предотвращать чрезмерное окисление липидов и белков путем удаления свободных гидроксильных радикалов, синглетного кислорода и супероксидных анионов и вносить существенный вклад в противовоспалительное, антиоксидантное и антиапоптозное действие [12].

Сигнальный путь NF- κ B играет ключевую роль в индукции воспаления при ХОБЛ. Сигнальное действие NF- κ B достигается путем активации белка-ингибитора каппа В (I κ B) [13] для убиквитинирования I κ B. В результате убиквитинирования I κ B NF- κ B высвобождается из комплекса NF- κ B/I κ B, активируется, обнажает домен ядерной локализации, образуя димер p50/RelA, и связывается с генами-мишенями через субъединицу p50, тем самым иницируя экспрессию мишеней, таких как TNF- α и IL-1, вызывающих воспалительные реакции [14].

Данных о влиянии резистивного дыхания на индукцию воспаления и окислительного стресса у здорового человека немного. У здоровых людей инспираторное резистивное дыхание приводит к повышению в плазме уровня фактора некроза опухоли альфа (TNF- α), интерлейкина 1 β (IL-1 β) и IL-6 [15] и стимулирует гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую ось, что приводит к (путем расщепления проопиомеланокортин) высвобождению адренкортикотропного гормона и β -эндорфина. [16]. Таким образом, вполне вероятно, что резистивное дыхание может индуцировать воспаление и окислительный стресс даже у здорового человека. Целью исследования являлось изучение влияния резистивного дыхания в условиях разной величины дополнительного респираторного сопротивле-

ния на уровень сигнальных белков HIF-1 α , Nrf2 и NF- κ B у здоровых людей.

Методика

Участники. В качестве испытуемых выступали 24 практически здоровых участника (13 мужчин и 11 женщин), предоставившие письменное информированное согласие. Средний возраст участников составил 22,9 \pm 2,7 года. В табл. 1. представлены антропометрические данные и показатели внешнего дыхания участников.

Таблица 1
Антропометрические данные и показатели внешнего дыхания участников
Table 1
Anthropometric data and external respiration parameters of the participants

	Мужчины Men (n - 13)	Женщины Women (n - 11)	p
Возраст, лет Age, years	23,4 \pm 2,6	22,2 \pm 2,8	0,35
Рост, см Height, cm	176,5 \pm 4,8	164,8 \pm 3,5	0,03
Масса тела, кг Body weight, kg	83,2 \pm 5,4	67,2 \pm 4,3	0,02
ФЖЕЛ, л FVC, l	5,01 \pm 0,79	4,30 \pm 0,94	0,14
ФЖЕЛ, % от должного FVC, % of predicted	101,5 \pm 4,2	109,3 \pm 9,3	0,25
ОФВ1, л/сек FEV1, l/sec	4,13 \pm 0,76	3,45 \pm 0,73	0,05
ОФВ1, % от должного FEV1,% of predicted	98 \pm 12	106 \pm 13	0,38
ОФВ1/ФЖЕЛ, % FEV1/FVC, %	79,8 \pm 4,7	80,6 \pm 2,7	0,52
ОФВ1/ФЖЕЛ, % от должного FEV1/FVC, % of predicted	97 \pm 9	98 \pm 4	0,32

Примечание: ОФВ1 – объем форсированного выдоха за 1 с; ФЖЕЛ – форсированная жизненная емкость легких.

Note: FEV1 – forced expiratory volume in 1 sec; FVC – forced vital capacity.

Перед участием в исследовании все испытуемые проверялись с помощью анамнестической анкеты и исключались, если они сообщали о наличии острых и хронических респираторных, сердечно-сосудистых заболеваний или обменных нарушениях. В критерии исключения попадали курильщики, беременные женщины. Локальный этический комитет Рязанского государственного медицинского университета (протокол №9 от 5 июня 2023 года) одобрил это исследование.

Экспериментальный дизайн. Испытуемые исследовались в лаборатории патофизиологии дыхания Рязанского государственного медицинского университета четыре раза с интервалом 2 дня между отдельными испытаниями в одно и то же время суток. Во время первого визита оценивали рост, массу тела, функцию легких, максимальное внутриротовое давление (P_{rimax}). В этот же день участники были ознакомлены с порядком измерений дыхательных показателей при резистивном дыхании. Во время второго, третьего и четвертого визитов испытуемые, согласно программе исследований, дышали либо без ДРС (свободное дыхание), либо в режиме резистивного дыхания (20 минут с резистивными нагрузками, эквивалентными 40% и 60%P_{rimax}) с оценкой кардиореспираторных и перцептивных данных и уровня сигнальных белков. Во время 2-4 визита участники получали один нагрузочный тест (свободное дыхание, 40% или 60%P_{rimax}), при этом порядок предъявления резистивных нагрузок был случайным. Испытуемые заранее не знали, какое значение ДРС будет использовано в конкретном исследовании. Мы применяли 20-ти минутную длительность действия ДРС,

поскольку, по литературным данным [17], этот диапазон времени резистивного дыхания вызывает достоверное утомление дыхательной мускулатуры.

Образцы крови для определения сигнальных белков HIF-1 α , Nrf2 и NF- κ B забирались до включения резистивной нагрузки и после 20 минут резистивного дыхания. Аналогично, кардиореспираторные данные и оценки воспринимаемой одышки (модифицированная шкала Борга [18] как мера усилия, необходимого для преодоления сопротивления) измерялась до предъявления ДРС и через 20 минут резистивного дыхания.

Оценка внешнего дыхания. Легочную функцию оценивали с использованием спироанализатора Spirolab III SpO₂ (Италия). Внутриротовое давление измерялось в см.вод.ст. с помощью моновакуометра WİKA-2-75 (Польша), который с помощью тонких трубок был связан с ротовой полостью испытуемого. Резистивное дыхание обеспечивалось подключением участников к устройству, дозирующему ДРС в диапазоне от 0 до 90 см.вод.ст./л/с (модель 7400 Int. Air. Medical, Франция). Дозирование резистивной нагрузки проводилось путем изменения сечения канала вдоха с помощью набора диафрагм. Методика определения максимального внутриротового давления P_{max} осуществлялась в положении сидя в виде инспираторного маневра после максимального выдоха в течение 3 секунд при полном закрытии канала вдоха тренажера Int. Air. Medical (маневр Мюллера). Инспираторные маневры повторялись через 30 секунд пока результаты P_{max} в трех попытках подряд не отличались на 10% [19]. Для последующих измерений использовалось наибольшее значение P_{max}.

Резистивное дыхание. Участники располагались в положении сидя, после чего им подбирался оптимальный размер носового зажима для обеспечения дыхания исключительно через рот. Для адаптации испытуемых к ротовому дыханию через мундштук, в течение двух минут участники осуществляли незатрудненное дыхание. ДРС величиной 40%P_{max} и 60%P_{max} обеспечивались изменением диаметра сечения канала вдоха тренажера Int. Air. Medical при достижении участниками целевой величины P_{max} по шкале WİKA-2-75 и задачей поддержания необходимого значения внутриротового давления. Во время резистивного дыхания испытуемых просили поддерживать наиболее удобную глубину и частоту дыхательных движений.

Кардиореспираторные реакции. Газовый состав выдыхаемого воздуха исследовали с помощью спироанализатора Spirolab III SpO₂ и ультразвукового спирокапнометра Spiro Scout (Германия). Частоту сердечных сокращений и сатурацию артериальной крови измеряли с помощью пульсоксиметра (Radical-7 Pulse CO-Oximeter; США).

Забор крови. До и после предъявления ДРС из локтевой вены через постоянную канюлю отбирали 10 мл венозной крови. Кровь переносили в предварительно охлажденные пробирки АРЕХЛАВ (Россия) объемом 6 мл, содержащие в качестве антикоагулянта К-3 EDTA. Образцы хранили во льду, а затем центрифугировали при 1800 об/мин в течение 20 минут (центрифуга CM-6M ELMİ, Латвия) для отделения плазмы от форменных элементов. Затем плазму разделяли на аликвоты и хранили при -80°C (UniFreez, Корея) до проведения биохимических анализов.

Суспензия лейкоцитов. Кольцо клеточного осадка, содержащее лейкоциты, отбирали и ресуспендировали в 500 мкл фосфатно-солевого буфера pH = 7,2 (ПанЭко, Россия). Выделение моноклеарных лейкоцитов из периферической крови основано на седиментации в одноступенчатом градиенте плотности фиколл-урографина [20]. В стерильную пластиковую пробирку объемом 3 мл вносили фиколл-урографин (ПанЭко, Россия) из расчета 0,5 мл на 1 мл полученной суспензии форменных элементов крови. Затем сверху осторожно наслаивали суспензию клеток и центрифугировали в течении 30 мин при 1800 об/мин (Sigma, США). В результате центрифугирования кровь разделяется на 4 отдельные фракции: первая фракция на дне пробирки содержит эритроциты и обломки клеток крови; вторая – это раствор фиколл-урографина; третья, расположенная над градиентом, – суспензия лимфоидных клеток; четвертая – образована плазмой с тромбоцитами. Далее в стерильных условиях пипеткой с границы раздела плотности отбирали фракцию лейкоцитов. Полученные клетки ресуспендировали в 500 мкл фосфатно-солевого буфера и центрифугировали в течение 15 мин при 1800 об/мин (Sigma, США). Последнюю процедуру отмывки клеток проводили трижды. Затем надосадочную жидкость удаляли, полученный осадок лейкоцитов лизировали в 60 мкл буфера NP-40 (Sigma, США) для метода вестерн-блот или в 500 мкл Triton X-100 (Cayman Chemicals, США) для определения активности ферментов. После 30 мин инкубации с лизирующим буфером суспензию клеток центрифугировали при 500 g (CM-50, «Eppendorf», Германия), супернатант использовали для проведения биохимиче-

ских исследований.

Методом вестерн-блот в лизате лейкоцитов оценивали относительное количество сигнальных белков HIF-1 α , Nrf2 и NF- κ B. 20 мкг белков супернатанта клеточного лизата подвергали электрофорезу с использованием 7,5% TGX Stain-Free FastCast Acrylamide Kit («Bio-Rad», США) в буферной системе Laemmli («BioRad», США). Образцы смешивали с буфером Laemmli («Bio-Rad», США), содержащем 50 мМ β -меркаптоэтанола («BioRad», США) в соотношении 1:3, инкубировали 10 мин при температуре 70°C. Гели подвергали электрофорезу при 100 В в течение 90 мин. Белки переносили на нитроцеллюлозную мембрану (Trans-Blot Turbo MiniSize nitrocellulose, «Bio-Rad», США) с использованием Mini Trans-Blot («Bio-Rad», США) в течение 10 мин при 25 В и 1,3 А. Белки на мембране блокировали раствором EveryBlot Blocking Buffer («Bio-Rad», США), содержащим 0,1% Tween-20 («Sigma», Германия), при инкубации в течение 1 ч и комнатной температуре.

Детекцию белков HIF-1 α , Nrf2 и NF- κ B проводили с использованием первичных кроличьих поликлональных антител: AF1009 антитело к HIF-1 α , AF0639 антитело к NRF-2, AF405 антитело к NfKb (все антитела производства Affinity, Китай), разведение антител 1:200 в буферном растворе TBST («Bio-Rad», США), инкубация в течение 2 ч при 37°C. Визуализацию первичных антител осуществляли с использованием вторичных козлиных антител (Goat anti-Rabbit IgG (H+L) Cross-Adsorbed Secondary Antibody, HRP, «Invitrogen», США) в разведении 1:4000 и инкубацией в течение 1 ч при комнатной температуре. Хемилюминесценцию фиксировали с помощью ChemiDocXRS+ («Bio-Rad», США). Интенсивность полученных полос (бэндов) анализировали денситометрически с помощью программного обеспечения ImageLab («Bio-Rad», США). Молекулярная масса определяемых белков была подтверждена путем сравнения с маркерами молекулярной массы (Precision plus protein standards Dual Color, «Bio-Rad», США). Содержание изучаемых белков оценивали относительно содержания белка домашнего хозяйства глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (GAPDH, англ.: glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase первичные антитела GAPDH Loading Control Monoclonal Antibody (GA1R), DyLight 68 («Invitrogen», США), разведение 1:1000, вторичные кроличьи антитела – Rabbit-anti-Mouse IgG (H+L) Secondary Antibody, HRP («Invitrogen», США), разведение 1:4000).

Статистический анализ. Все статистические анализы проводились с использованием пакета статистического программного обеспечения (SPSS v.22.0, США). Тест Шапиро-Уилка подтвердил нормальное распределение первичных данных и позволил использовать параметрические методы статистической обработки. В целом в исследовании использовался двусторонний дисперсионный анализ с повторными измерениями (ANOVA) для сравнения физиологических параметров в условиях разных величин ДРС. Однофакторный анализ ANOVA с повторными измерениями по критерию F-статистики также использовался для определения наличия различий показателей при различных сопротивлениях вдоха. Уровень статистической значимости был установлен на уровне $\alpha \leq 0,05$, и все данные представлены как среднее значение \pm стандартное отклонение.

Результаты

Кардиореспираторные и перцептивные реакции. В табл. 2. приведены изменения кардиореспираторных и перцептивных показателей испытуемых после 20 минут резистивного дыхания с ДРС величиной 40%P m_{max} и 60%P m_{max} от относительно свободного (незатрудненного) дыхания.

Как следует из приведенных данных, наибольшую динамику демонстрируют показатели внутриротового давления на вдохе и выдохе, отражающие затраты энергии дыхательных мышц при резистивном дыхании. Максимальное давление вдоха после 20 минут резистивного дыхания с ДРС 40 и 60%P m_{max} было существенно выше ($p < 0,01$ и $p < 0,001$ соответственно) относительно исходного уровня. При этом динамика максимального давления выдоха после 20 минут резистивного дыхания была меньше: достоверное повышение показателя ($p < 0,05$) отмечено только при преодолении ДРС 60%P m_{max} по сравнению с исходным уровнем. Эти различия характерны для инспираторного резистивного дыхания с нагруженной фазой вдоха.

Субъективное восприятие ДРС по шкале Борга на 40 и 60%P m_{max} было достоверно выше относительно незатрудненного дыхания ($p < 0,05$). При этом отмечались достоверные различия ($p < 0,05$) в оценке интенсивности уровня одышки между ДРС величиной 40% и 60%P m_{max} . Рабочий цикл П/Т достоверно увеличивался ($p < 0,05$) в условиях 20-минутного резистивного дыхания на ДРС 60%P m_{max} относительно незатрудненного дыхания, что свидетельствует о стенотической пере-

стройке дыхательного рисунка. Частота дыхательных движений в условиях резистивного дыхания демонстрировала тенденцию к урежению, но снижение ЧДД не достигало достоверных значений ($p>0,05$). На ДРС 40 и 60%Pmmax не отмечалось достоверных изменений вентиляционных показателей (VE, л/мин и VT, л) относительно показателей исходного фона ($p>0,05$), что свидетельствовало об изовентиляторном типе перестройки дыхательного рисунка на фоне резистивных нагрузок. Это обстоятельство, по-видимому, обусловило отсутствие достоверных изменений сатурации артериальной крови кислородом (SpO₂,%) и давления углекислого газа в конце выдоха (PETCO₂, мм.рт.ст.) при резистивном дыхании (таблица 2).

Таблица 2

Изменения кардиореспираторных и перцептивных показателей испытуемых после 20 минут резистивного дыхания с ДРС величиной 40%Pmmax и 60%Pmmax от относительно свободного (незатрудненного) дыхания

Table 2

Changes in cardiorespiratory and perceptual parameters of subjects after 20 minutes of resistive breathing with a ARR of 40% Pmmax and 60% Pmmax from relatively free (unobstructed) breathing

Показатели Indicators	До воздействия before impact	ДРС ARR
Pmmax вдоха, см H ₂ O Pmmax insp, sm H ₂ O		
Свободное дыхание Free breathing	-1,3±0,2	-1,7±0,4
Pmmax вд.40% 40%Pmmax insp	-1,6±0,3	-31,2±7,0**
Pmmax вд.60% 60%Pmmax insp	-1,9±0,4	-57,1±12,7***
Pmmax выдоха, см H ₂ O Pmmax exp, sm H ₂ O		
Свободное дыхание Free breathing	3,4±1,8	3,8±1.3
Pmmax выд.40% 40%Pmmax exp	4,6±2,2	6,8±2,9
Pmmax выд.60% 60%Pmmax exp	4,9±2,5	8,2±3,4*
Шкала Борга Borg scale		
Свободное дыхание Free breathing	0,3±0,09	1,1±0,4
40%Pmmax	0,8±0,1	3,2±1,4*
60%Pmmax	0,7±0,2	6,5±2,1*†
VE, л/мин VE, l/min		
Свободное дыхание Free breathing	7,2±1,6	8,4±2,5
40%Pmmax	8,4±1,8	9,2±2,4
60%Pmmax	8,6±2,0	9,6±2,1
ЧДД, 1/мин RR, 1/min		
Свободное дыхание Free breathing	16,2±3,1	15,6±2,4
40%Pmmax	14,7±3,4	12,4±3,1
60%Pmmax	15,4±4,2	11,3±2,4

Показатели Indicators	До воздействия before impact	ДРС ARR
VT, л VT, l		
Свободное дыхание Free breathing	0,68±0,11	0,70±0,14
40%Pmmax	0,75±0,14	0,94±0,27
60%Pmmax	0,76±0,20	1,07±0,25
TI/T, ед TI/T		
Свободное дыхание Free breathing	0,44±0,04	0,44±0,04
40%Pmmax	0,43±0,04	0,54±0,06
60%Pmmax	0,42±0,06	0,68±0,07*
ЧСС, уд/мин HR, 1/min		
Свободное дыхание Free breathing	65,5±9,2	64,3±8,5
40%Pmmax	70,9±10,6	75,6±10,3
60%Pmmax	68,4±9,4	80,4±11,6
SpO ₂ , %		
Свободное дыхание Free breathing	97,1±1,2	97,4±1,2
40%Pmmax	97,6±0,9	98,1±1,7
60%Pmmax	97,5±1,1	97,1±1,8
PETCO ₂ , мм рт.ст. PETCO ₂ , mmHg		
Свободное дыхание Free breathing	36,3±3,6	34,5±3,4
40%Pmmax	34,5±4,1	35,3±3,7
60%Pmmax	34,9±4,2	35,1±4,2

Примечание: ЧДД – частота дыхания; ЧСС – частота сердечных сокращений; Pmmax вд., см H₂O – максимальное внутриротовое давление на вдохе; Pmmax выд., см H₂O – максимальное внутриротовое давление на выдохе; PETCO₂ – парциальное давление углекислого газа в конце выдоха; Шкала Борга – величина воспринимаемой одышки по Боргу; SpO₂ – сатурация артериальной крови кислородом; TI/T – рабочий цикл; VE – минутная вентиляция; VT – дыхательный объем. * – достоверная разница со свободным дыханием (p<0,05); ** – достоверная разница со свободным дыханием (p<0,01); *** – достоверная разница со свободным дыханием (p<0,001); † – достоверная разница с 40%Pmmax (p<0,05).

Note: RR – respiratory rate; HR – heart rate; Pmmax in., cm H₂O – maximum intraoral pressure during inspiration; Pmmax exp., cm H₂O – maximum intraoral pressure during expiration; PETCO₂ – partial pressure of carbon dioxide at the end of expiration; Borg scale – the value of perceived dyspnea according to Borg; SpO₂ – arterial blood oxygen saturation; TI/T – work cycle; VE – minute ventilation; VT – tidal volume. * – significant difference from free breathing (p<0.05); ** – significant difference from free breathing (p<0.01); *** – significant difference from free breathing (p<0.001); † – significant difference from 40%Pmmax (p<0.05).

Сигнальные белки HIF-1α, Nrf2 и NF-κB. На рисунке 1 представлены результаты денситометрического анализа HIF-1α, Nrf2 и NF-κB, выполненного с помощью программного обеспечения ImageLab, и фото бендов, полученных с помощью ChemiDocXRS+.

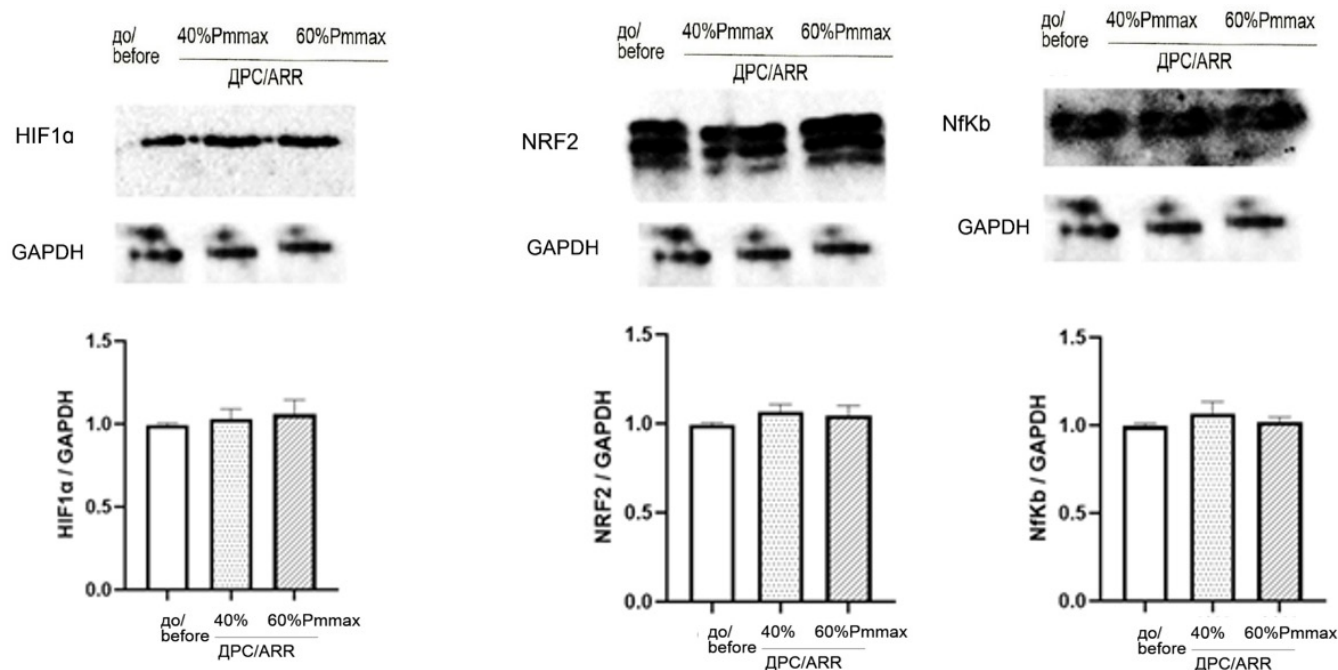


Рис. 1. Изменения относительного уровня HIF-1α, Nrf2 и NF-κB в цитоплазматической фракции гомогената лейкоцитов при резистивном дыхании с ДРС 40%Pmmax и 60%Pmmax.
 Fig. 1. Changes in the relative level of HIF-1α, Nrf2 and NF-κB in the cytoplasmic fraction of leukocyte homogenate during resistive respiration with ARR of 40%Pmmax and 60%Pmmax.

Как следует из результатов вестерн-блот анализа уровня HIF-1α, Nrf2 и NF-κB в цитоплазматической фракции гомогената лейкоцитов, резистивное дыхание на ДРС 40%Pmmax и 60%Pmmax не вызывало изменений уровня исследуемых сигнальных белков. Наблюдаемая нами тенденция к увеличению на ДРС 60%Pmmax относительного уровня HIF-1α, Nrf2 и NF-κB на 4,7; 6,2 и 7,5% относительно исходного уровня была статистически недостоверной ($p > 0,05$).

Обсуждение

Цель этого исследования заключалась в изучении возможного влияния резистивного дыхания на уровень сигнальных белков HIF-1α, Nrf2 и NF-κB у здоровых людей. Как было показано нами ранее [21], используемые величины ДРС 40%Pmmax и 60%Pmmax вызывают одышку, по величине и структуре близкую к ощущениям пациентов с персистирующим ограничением воздушного потока при ХОБЛ.

Мы подтвердили эффективность использованных величин ДРС на изменения показателей дыхания и перцепции резистивных дыхательных нагрузок. Наибольшие изменения после 20 минут резистивного дыхания с ДРС 40 и 60%Pmmax демонстрировали показатели моторного выхода внешнего дыхания: максимальное давление вдоха после 20 минут резистивного дыхания 60%Pmmax увеличивалось в 33 раза относительно незатрудненного дыхания. Рабочий цикл T1/T в условиях 20-минутного резистивного дыхания на ДРС 60%Pmmax достоверно повышался относительно незатрудненного дыхания, что свидетельствует о стенотической перестройке дыхательного рисунка. Интересным фактом явилось отсутствие статистически достоверных изменений вентиляционных показателей (VE, л/мин и VT, л) относительно показателей исходного фона, что свидетельствовало об изовентиляторном характере перестройки дыхательного рисунка на фоне резистивных нагрузок [22]. Это обстоятельство, по-видимому, обусловило отсутствие достоверных изменений газового состава крови и выдыхаемого воздуха при резистивном дыхании. Уровень субъективного восприятия ДРС по шкале Борга на фоне резистивного дыхания характеризовался почти шестикратным ростом. При этом отмечались достоверные различия в оценке интенсивности уровня одышки между ДРС величиной 40% и 60%Pmmax.

В нашем исследовании 20-ти минутное резистивное дыхание у здоровых людей с сопротивлениями 40% и 60%Pmmax не вызывало изменений уровня исследуемых сигнальных белков HIF-1α, Nrf2 и NF-κB. HIF-1α является основной регуляторной молекулой, участвующей в различных механизмах,

возникающих в результате гипоксии. Воздействие гипоксии, связанной с легочными патологическими процессами, физическими нагрузками или снижением парциального давления кислорода, приводит к изменениям на клеточном уровне, связанным с окислительным стрессом [23]. Как было отмечено ранее, изовентиляторный характер перестройки дыхательного рисунка при резистивном дыхании, не сопровождается выраженными гипоксическими изменениями. По-видимому, это обстоятельство важно для объяснения отсутствия достоверного повышения сигнальных белков HIF-1 α в рамках используемой нами модели. Кроме того, собственные патофизиологические механизмы ХОБЛ влияют на экспрессию HIF-1 α не только за счет гипоксической стимуляции [24], но в связи с воспалительной реакцией дыхательных путей, хроническим воспалением паренхимы легких [25] и регенерацией сосудов [26], особенно у курильщиков.

Сигнальный белок Nrf2 является критическим редокс-чувствительным фактором транскрипции. Он активируется для улучшения состояния окислительного стресса в организме, содействия выживанию клеток и поддержания окислительно-восстановительного гомеостаза клеток путем регулирования индуцированной экспрессии антиоксидантных ферментов [27]. Когда клетки подвергаются атаке активных форм кислорода (АФК), Nrf2 диссоциирует от Keap1 и быстро переносится в ядро. Фосфорилированный Nrf2 образует гетеродимер с белком Maf, а затем соединяется с элементами антиоксидантного ответа, которые активируют экспрессию гемоксигеназы 1 (HO-1). Таким образом, основным механизмом запуска Nrf2-сигналинга является окислительный стресс. Как уже отмечалось, используемые нами параметры резистивного дыхания (40-60%P_{max} в течение 20 минут) не вызывает достоверного изменения газового гомеостаза у здоровых людей, что минимизирует проявления окислительного стресса.

Кроме того, описан ряд специфических патофизиологических механизмов ХОБЛ, которые приводят к экспрессии Nrf2. В условиях хронического воспаления активируется путь воспалительного сигнального каскада циклооксигеназы-2, продукты метаболизации которой связываются с Keap1, тем самым активируя Nrf2 и способствуя регрессии воспаления. X. Zhang et al., продемонстрировали эффективную регуляцию Nrf2 в уменьшении воспаления и окислительного стресса [28].

Патогенез ХОБЛ вызывает глубокие нарушения клеточного метаболизма, повышает уязвимость к окислительному стрессу и модулирует активацию провоспалительных сигнальных путей, особенно пути NF- κ B. Было высказано предположение, что повышенная генерация АФК может подавлять экспрессию PGC1 α (основного регулятора митохондриального биогенеза) и генов, кодирующих компоненты дыхательной цепи, но также может действовать как стимул, активирующий провоспалительную передачу сигналов NF κ B, которая пересекается с процессами, влияющими на функцию митохондрий [29]. Показано, что передача сигналов, инициируемая toll-подобным рецептором-4 (TLR-4) и рецептором фактора некроза опухоли- α (TNF- α), приводит к активации пути NF κ B, который связан со снижением митохондриального дыхания и подавляет активацию регуляторов транскрипции, которые способствуют биогенезу митохондрий [30]. Таким образом, экспрессия сигнальных белков семейства NF- κ B во многом связана со специфическими патогенетическими механизмами хронических респираторных заболеваний, что может объяснить отсутствие их изменений в условиях резистивного дыхания здоровых людей.

Необходимо отметить имеющееся ограничение исследования. Оно заключается в исследовании изменений сигнальных белков HIF-1 α , Nrf2 и NF- κ B в рамках модели срочной адаптации к ДРС, предполагавшей только два сеанса резистивного дыхания (40 и 60%P_{max}). Формирование сигнальных механизмов в виде экспрессии транскрипционных факторов, как правило, предполагает включение хроногенных механизмов, что обуславливает использование моделей долговременной адаптации к резистивным дыхательным нагрузкам. В будущих исследованиях можно рассмотреть возможность изучения рассматриваемых сигнальных механизмов в условиях более длительного периода резистивного дыхания (например, в течение нескольких недель адаптации к ДРС).

Заключение

Резистивное дыхание оказывает механическую нагрузку на дыхательную мускулатуру, что подтверждается достоверным увеличением внутриротового давления, отражающим затраты энергии дыхательных мышц на преодоление ДРС. Повышение энергетики резистивного дыхания сопровождается увеличением одышки по шкале Борга относительно незатрудненного дыхания. В условиях

20-минутного резистивного дыхания формируется изовентиляторная перестройка дыхательного паттерна, которая обеспечивает сохранение газового гомеостаза. Резистивное дыхание 40% и 60%P_{max} не вызывало достоверных изменений уровня исследуемых сигнальных белков HIF-1 α , Nrf2 и NF- κ B в цитоплазматической фракции гомогената лейкоцитов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Zuo L., Nogueira L., Hogan M.C. Effect of pulmonary TNF- α overexpression on mouse isolated skeletal muscle function. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2011;301:1025–1031.
2. Hogg J.C., Timens W. The pathology of chronic obstructive pulmonary disease. *Ann. Rev. Pathol.* 2009;4:435–459.
3. Barnes P.J. Chronic obstructive pulmonary disease. *N. Engl. J. Med.* 2000;343:269–280.
4. Ni L., Chuang C.C., Zuo L. Fine particulate matter in acute exacerbation of COPD. *Front Physiol.* 2015;6:294.
5. West J.B. Invited review: pulmonary capillary stress failure. *J. Appl. Physiol.* 2000;89:2483–2489.
6. Jaalouk D.E., Lammerding J. Mechanotransduction gone awry. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2009;10:63–73.
7. Zuo L., Hallman A.H., Yousif M.K., Chien M.T. Oxidative stress, respiratory muscle dysfunction, and potential therapeutics in chronic obstructive pulmonary disease. *Front. Biol.* 2012;7:506–513.
8. Barnes, P.J. Oxidative Stress in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Antioxidants.* 2022, 11, 965.
9. Li R., Kang H., Chen S. From Basic Research to Clinical Practice: Considerations for Treatment Drugs for Silicosis. *Int. J. Mol. Sci.* 2023; 24, 8333.
10. Villamil-Parra W., Cristancho-Mejía É., Torrella J.R., Mancera-Soto E.M. Factor 1 inducible por hipoxia y enfermedad pulmonar obstructiva crónica: respuestas epigenéticas al ejercicio físico. *Revisión sistemática. Fisioterapia.* 2021; S0211563821001334. doi:10.1016 /j. ft.2021 10. 002.
11. Semenza G.L. Hypoxia-inducible factors in physiology and medicine. *Cell.* 2012;148(3):399–408. doi: 10. 1016/j.cell 2012. 01. 021
12. Bao J., Li D. Zha et al. Chlorogenic acid prevents diabetic nephropathy by inhibiting oxidative stress and inflammation through modulation of the Nrf2/HO-1 and NF- κ B pathways. *International Immunopharmacology.* 2018;54:245–253.
13. Hoffmann A., Levchenko A., Scott M.L., Baltimore D. The IkappaB-NF-kappaB signaling module: temporal control and selective gene activation. *Science.* 2002;298(5596):1241–1245. doi:10.1126/science.1071914.
14. Lee U.J., Choung S.R., Prakash K.V., et al. Dual knockdown of p65 and p50 subunits of NF-kappaB by siRNA inhibits the induction of inflammatory cytokines and significantly enhance apoptosis in human primary synoviocytes treated with tumor necrosis factor-alpha. *Mol. Biol. Rep.* 2008;35(3):291–298. doi:10.1007/s11033-007-9084-4
15. Vassilakopoulos T., Katsaounou P., Karatza M.H., et al. Strenuous resistive breathing induces plasma cytokines: role of antioxidants and monocytes. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2002;166:1572–1578.
16. Vassilakopoulos T., Zakyntinos S., Roussos C. Strenuous resistive breathing induces proinflammatory cytokines and stimulates the HPA axis in humans. *Am. J. Physiol.* 1999;277:1013–1019.
17. Asimakos A., Toumpanakis D., Karatza M.H., Vasileiou S. et al. Immune cell response to strenuous resistive breathing: comparison with whole body exercise and the effects of antioxidants. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2018;13:529–545. doi:10.2147/COPD.S154533.
18. Borg G.A. Psychophysical bases of perceived exertion. *Med. Sci. Sports. Exerc.* 1982;14: 377–381. doi:10.1249/00005768-198205000-00012.
19. Mills D.E., Johnson M.A., McPhillimey M.J., Williams N.C., et al. The effects of inspiratory muscle training on plasma interleukin-6 concentration during cycling exercise and a volitional mimic of the exercise hyperpnea. *J. Appl. Physiol.* 2013; 115:1163–1172. doi:10.1152/japplphysiol.00272.
20. Boyum A. Separation of blood leucocytes, granulocytes and lymphocytes. *Tissue Antigens.* 1974;4(4):269-74.
21. Бяловский Ю.Ю., Ракитина И.С. Вариабельность восприятия одышки в условиях дополнительного респираторного сопротивления: одномоментное наблюдательное поисковое исследование. *Кубанский научный медицинский вестник.* 2023;30 (3):56-64. doi: 10.25207/1608-6228-2023-30-3-56-64.

22. Urban M.H., Mayr A.K., Schmidt I., Margulies E., Grasmuk-Siegl E., Burghuber O.C., et al. Induction of dynamic hyperinflation by expiratory resistance breathing in healthy subjects—an efficacy and safety study. *Experimental Physiology*. 2021; 106(2):532–43. doi:10.1113/EP088439.
23. Villamil-Parra W., Cristancho-Mejía É., Torrella J.R., Mancera-Soto E.M. Factor 1 inducible por hipoxia y enfermedad pulmonar obstructiva crónica: respuestas epigenéticas al ejercicio físico. Revisión sistemática. *Fisioterapia*. 2021; S0211563821001334. doi:10.1016 /j. ft.2021.10.002.
24. Lee J.W., Ko J., Ju C., Eltzschig H.K. Hypoxia signaling in human diseases and therapeutic targets. 2019;51(6):1–13.
25. Li J., Zhao P., Tian Y., Li K., Zhang L., Guan Q., et al. The Anti-Inflammatory Effect of a Combination of Five Compounds From Five Chinese Herbal Medicines Used in the Treatment of COPD. *Front Pharmacol*. 2021;12:709702. doi:10. 3389/ fphar. 2021. 709702.
26. Karnati S., Seimetz M., Kleefeldt F., Sonawane A., Madhusudhan T., Bachhuka A., et al. Chronic Obstructive Pulmonary Disease and the Cardiovascular System: Vascular Repair and Regeneration as a Therapeutic Target. *Front Cardiovasc Med*. 2021;8:649512. doi:10. 3389/ fcvm. 2021. 649512.
27. Krajka-Kuzniak V., Paluszczak J., Baer-Dubowska J. W. The Nrf2-ARE signaling pathway: an update on its regulation and possible role in cancer prevention and treatment. *Pharmacological Reports*. 2017; 69(3):393–402.
28. Zhang X., Shi S., Shen J. et al. Functional immunoregulation by heme oxygenase 1 in juvenile autoimmune diseases. *Current Gene Therapy*. 2019;19(2):110–116.
29. Cherry A.D., Piantadosi C.A. Regulation of mitochondrial biogenesis and its intersection with inflammatory responses. *Antioxid. Redox Signal*. 2015;22:965–976.
30. Kwon O.S. et al. Intramyocellular ceramides and skeletal muscle mitochondrial respiration are partially regulated by Tolllike receptor 4 during hindlimb unloading. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol*. 2016;311:879–887.

Авторы

Бяловский Юрий Юльевич

Д. м. н., профессор, заведующий кафедрой патофизиологии

b_uu@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6769-8277>

eLibrary SPIN: 6389-6643

Ракитина Ирина Сергеевна

К. м. н., доцент, доцент кафедры патофизиологии

rakitina62@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9406-1765>

eLibrary SPIN: 8427-9471

Абаленихина Юлия Владимировна

Д. м. н., доцент, профессор кафедры биологической химии

abalnihina88@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0427-0967>

eLibrary SPIN: 4496-9027

Щулькин Алексей Владимирович

Д. м. н., доцент, профессор кафедры фармакологии

alekseyshulkin@rambler.ru

ORCID: [https:// orcid.org/0000-0002-5618-7607](https://orcid.org/0000-0002-5618-7607)

eLibrary SPIN: 2754-1702

ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России

Рязань, Российская Федерация

Yu. Yu. Byalovsky, I.S. Rakitina, Yu.V. Abalenikhina, A.V. Shchulkin

THE EFFECT OF ADDITIONAL RESPIRATORY RESISTANCE ON THE LEVEL OF SIGNALING PROTEINS HIF-1 α , Nrf2 and NF- κ B IN HEALTHY PEOPLE

Ryazan State Medical University named after Academician I.P. Pavlov
of the Ministry of Health of the Russian Federation, Ryazan, Russian Federation

Abstract. There are limited data on the effect of additional respiratory resistance (ARR) on the induction of inflammation and oxidative stress in healthy humans. *The aim of the study* was to study the effect of resistive breathing under conditions of different amounts of ARR on the level of signaling proteins HIF-1 α , Nrf2 and NF- κ B in healthy people. *Methodology.* The subjects were 24 practically healthy participants (13 men and 11 women), average age 22.9 \pm 2.7 years. According to the research program, the subjects breathed either without ARR (free breathing) or in resistive breathing mode (20 minutes with resistive loads equivalent to 40% and 60%Pmmax). The cardiorespiratory and perceptual reactions of participants were measured before and after 20 minutes of resistive breathing with different values of ARR. Before and after presentation of ARR, 10 ml of venous blood was collected from the antecubital vein through a permanent cannula. The relative amounts of signaling proteins HIF-1 α , Nrf2, and NF- κ B were assessed using Western blot in the leukocyte lysate. *Results:* The maximum inspiratory pressure after 20 minutes of resistive breathing with ARR 40 and 60%Pmmax increased significantly ($p < 0.01$ and $p < 0.001$, respectively) relative to free breathing. A significant increase was observed in the perception of ARR on the Borg scale at 40 and 60%Pmmax ($p < 0.05$). The TI/T duty cycle increased significantly ($p < 0.05$) at 60%Pmmax. Resistance breathing did not cause significant changes in ventilation parameters (VE, l/min and VT, l) and gas composition of the body (SpO₂, % and PETCO₂, mmHg, $p > 0.05$). 20-minute resistive breathing at ARR 40%Pmmax and 60%Pmmax did not cause significant changes in the level of signaling proteins HIF-1 α , Nrf2 and NF- κ B. *Conclusion:* Resistance breathing causes an increase in the energy of the respiratory muscles and is accompanied by an increase in shortness of breath on the Borg scale relative to undifficult breathing. Under conditions of 20-minute resistive breathing, an isoventilatory restructuring of the respiratory pattern is formed, which ensures the preservation of gas homeostasis. Resistive breathing of 40% and 60%Pmmax did not cause significant changes in the level of the studied signaling proteins HIF-1 α , Nrf2 and NF- κ B in the cytoplasmic fraction of the leukocyte homogenate.

Keywords: additional respiratory resistance, signaling proteins HIF-1 α , Nrf2 and NF- κ B

There is no conflict of interest.

Contact details of the corresponding author:

Yury. Yu. Byalovsky

b_uu@mail.ru

Received: 06.09.2024

For citation: Byalovsky Yu. Yu., Rakitina I.S., Abalenikhina Yu.V., Shchulkin A.V. The effect of additional respiratory resistance on the level of signaling proteins HIF-1 α , Nrf2 and NF- κ B in healthy people. [Online] Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki. = Journal of Ural Medical Academic Science. 2024, Vol. 21, no. 5, pp. 607–620. DOI: 10.22138/2500-0918-2024-21-5-607-620 (In Russ)

REFERENCES

1. Zuo L., Nogueira L., Hogan M.C. Effect of pulmonary TNF- α overexpression on mouse isolated skeletal muscle function. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2011;301:1025–1031.
2. Hogg J.C., Timens W. The pathology of chronic obstructive pulmonary disease. *Ann. Rev. Pathol.* 2009;4:435–459.
3. Barnes P.J. Chronic obstructive pulmonary disease. *N. Engl. J. Med.* 2000;343:269–280.

4. Ni L., Chuang C.C., Zuo L. Fine particulate matter in acute exacerbation of COPD. *Front Physiol.* 2015;6:294.
5. West J.B. Invited review: pulmonary capillary stress failure. *J. Appl. Physiol.* 2000;89:2483–2489.
6. Jaalouk D.E, Lammerding J. Mechanotransduction gone awry. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2009;10:63–73.
7. Zuo L., Hallman A.H., Yousif M.K., Chien M.T. Oxidative stress, respiratory muscle dysfunction, and potential therapeutics in chronic obstructive pulmonary disease. *Front. Biol.* 2012;7:506–513.
8. Barnes, P.J. Oxidative Stress in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Antioxidants.* 2022, 11, 965.
9. Li R., Kang H., Chen S. From Basic Research to Clinical Practice: Considerations for Treatment Drugs for Silicosis. *Int. J. Mol. Sci.* 2023; 24, 8333.
10. Villamil-Parra W., Cristancho-Mejía É., Torrella J.R., Mancera-Soto E.M. Factor 1 inducible por hipoxia y enfermedad pulmonar obstructiva crónica: respuestas epigenéticas al ejercicio físico. Revisión sistemática. *Fisioterapia.* 2021; S0211563821001334. doi:10.1016 /j. ft.2021 10. 002.
11. Semenza G.L. Hypoxia-inducible factors in physiology and medicine. *Cell.* 2012;148(3):399–408. doi: 10. 1016/j.cell 2012. 01. 021
12. Bao J., Li D. Zha et al. Chlorogenic acid prevents diabetic nephropathy by inhibiting oxidative stress and inflammation through modulation of the Nrf2/HO-1 and NF- κ B pathways. *International Immunopharmacology.* 2018;54:245–253.
13. Hoffmann A., Levchenko A., Scott M.L., Baltimore D. The IkappaB-NF-kappaB signaling module: temporal control and selective gene activation. *Science.* 2002;298(5596):1241–1245. doi:10.1126/science.1071914.
14. Lee U.J., Choung S.R., Prakash K.V., et al. Dual knockdown of p65 and p50 subunits of NF-kappaB by siRNA inhibits the induction of inflammatory cytokines and significantly enhance apoptosis in human primary synoviocytes treated with tumor necrosis factor-alpha. *Mol. Biol. Rep.* 2008;35(3):291–298. doi:10.1007/s11033-007-9084-4
15. Vassilakopoulos T., Katsaounou P., Karatza M.H., et al. Strenuous resistive breathing induces plasma cytokines: role of antioxidants and monocytes. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2002;166:1572–1578.
16. Vassilakopoulos T., Zakynthinos S., Roussos C. Strenuous resistive breathing induces proinflammatory cytokines and stimulates the HPA axis in humans. *Am. J. Physiol.* 1999;277:1013–1019.
17. Asimakos A., Toumpanakis D., Karatza M.H., Vasileiou S. et al. Immune cell response to strenuous resistive breathing: comparison with whole body exercise and the effects of antioxidants. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2018;13:529–545. doi:10.2147/COPD.S154533.
18. Borg G.A. Psychophysical bases of perceived exertion. *Med. Sci. Sports. Exerc.* 1982;14: 377–381. doi:10.1249/00005768-198205000-00012.
19. Mills D.E., Johnson M.A., McPhilemy M.J., Williams N.C., et al. The effects of inspiratory muscle training on plasma interleukin-6 concentration during cycling exercise and a volitional mimic of the exercise hyperpnea. *J. Appl. Physiol.* 2013; 115:1163–1172. doi:10.1152/jappphysiol.00272.
20. Boyum A. Separation of blood leucocytes, granulocytes and lymphocytes. *Tissue Antigens.* 1974;4(4):269-74.
21. Byalovsky Yu.Yu., Rakitina I.S. Variability in the perception of dyspnea in the presence of additional respiratory resistance: a cross-sectional observational exploratory study. *Kubanskiy nauchnyj medicinskiy vestnik.* 2023;30 (3):56-64 (in Russia). doi: 10.25207/1608-6228-2023-30-3-56-64.
22. Urban M.H., Mayr A.K., Schmidt I., Margulies E., Grasmuk-Siegl E., Burghuber O.C., et al. Induction of dynamic hyperinflation by expiratory resistance breathing in healthy subjects—an efficacy and safety study. *Experimental Physiology.* 2021; 106(2):532–43. doi:10.1113/EP088439.
23. Villamil-Parra W., Cristancho-Mejía É., Torrella J.R., Mancera-Soto E.M. Factor 1 inducible por hipoxia y enfermedad pulmonar obstructiva crónica: respuestas epigenéticas al ejercicio físico. Revisión sistemática. *Fisioterapia.* 2021; S0211563821001334. doi:10.1016 /j. ft.2021.10.002.
24. Lee J.W., Ko J., Ju C., Eltzschig H.K. Hypoxia signaling in human diseases and therapeutic targets. *2019;51(6):1–13.*
25. Li J., Zhao P., Tian Y., Li K., Zhang L., Guan Q., et al. The Anti-Inflammatory Effect of a Combination of Five Compounds From Five Chinese Herbal Medicines Used in the Treatment of COPD. *Front Pharmacol.*

2021;12:709702. doi:10. 3389/ fphar. 2021. 709702.

26. Karnati S., Seimetz M., Kleefeldt F., Sonawane A., Madhusudhan T., Bachhuka A., et al. Chronic Obstructive Pulmonary Disease and the Cardiovascular System: Vascular Repair and Regeneration as a Therapeutic Target. *Front Cardiovasc Med.* 2021;8:649512. doi:10. 3389/ fcvm. 2021. 649512.

27. Krajka-Kuzniak V., Paluszczak J., Baer-Dubowska J. W. The Nrf2-ARE signaling pathway: an update on its regulation and possible role in cancer prevention and treatment. *Pharmacological Reports.* 2017; 69(3):393–402.

28. Zhang X., Shi S., Shen J. et al. Functional immunoregulation by heme oxygenase 1 in juvenile autoimmune diseases. *Current Gene Therapy.* 2019;19(2):110–116.

29. Cherry A.D., Piantadosi C.A. Regulation of mitochondrial biogenesis and its intersection with inflammatory responses. *Antioxid. Redox Signal.* 2015;22:965–976.

30. Kwon O.S. et al. Intramyocellular ceramides and skeletal muscle mitochondrial respiration are partially regulated by Tolllike receptor 4 during hindlimb unloading. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2016;311:879–887.

Authors

Yury. Yu. Byalovsky

Dr. Sc. Med., Prof., Head of the Department of Pathophysiology

b_uu@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6769-8277>

eLibrary SPIN: 6389-6643

Irina S. Rakitina

PhD Med, Assoc. Prof. of the Department of Pathophysiology

rakitina62@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9406-1765>

eLibrary SPIN: 8427-9471

Yulia V. Abalenikhina

Doc. Med., Assoc. Prof, Prof. of the Department of Biological Chemistry

abalenihina88@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0427-0967>

eLibrary SPIN: 4496-9027

Aleksey V. Shchulkin

Doc. Med., Assoc. Prof, Prof. of the Department of Pharmacology

alekseyshulkin@rambler.ru

ORCID: [https:// orcid.org/0000-0002-5618-7607](https://orcid.org/0000-0002-5618-7607)

eLibrary SPIN: 2754-1702

Ryazan State Medical University named after Academician I.P. Pavlov of the Ministry of Health of the Russian Federation

Ryazan, Russian Federation