

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования «Первый Санкт-Петербургский
медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Министерства
здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

Кузьмина Анна Александровна

ОСОБЕННОСТИ СИГНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ АПЕЛИН/АР1
ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ВАРИАНТАХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

14.01.25 – Пульмонология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор
Валерий Николаевич Минеев

Санкт-Петербург 2017

ОГЛАВЛЕНИЕ:

ОГЛАВЛЕНИЕ.....	2
ВВЕДЕНИЕ.....	4
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	9
1.1 Общие сведения	9
1.2 Общая характеристика апелина и APJ-рецептора.....	10
1.3 Экспрессия апелина и APJ-рецептора в тканях.....	13
1.4 Известные эффекты работы апелин/APJ системы.....	14
1.5 Синтезированные агонисты и антагонисты APJ-рецептора.....	21
1.6 Апелин/APJ в бронхо-лёгочной системе.....	22
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	25
2.1 Клиническая характеристика обследованных лиц.....	25
2.2 Методы исследования.....	34
2.2.1 Определение уровня апелина-12 в плазме крови.....	34
2.2.2 Определение уровня апелина-36 в плазме крови.....	35
2.2.3 Определение уровней цитокинов в плазме крови (интерлейкин-10, интерлейкин-4, TNF- α).....	36
2.2.4 Определение рецептора APJ в мононуклеарах (лимфоцитах) периферической крови.....	37
2.2.5 Исследование апелина-12, апелина-36 и цитокинов в мокроте.....	38
2.3 Методы статистической обработки.....	39
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	40
3.1 Характеристика уровня апелина-12 в плазме крови.....	40
3.2 Характеристика уровня апелина-36 в плазме крови.....	56
3.3. Характеристика уровня APJ-рецептора лимфоцитов периферической крови.....	71
3.4 Характеристика уровня апелина-12 и апелина-36 в мокроте.....	81
3.5 Характеристика интегральных индексов адипокинов в плазме крови.....	90
Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	108

ВЫВОДЫ.....	135
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	137
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	138
ЛИТЕРАТУРА.....	140

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы

Бронхиальная астма является одной из важнейших проблем современной пульмонологии с большой социальной значимостью [9]. По данным разных источников [12] отмечается непрерывное увеличение распространенности заболевания во многих странах, достигая 10% у взрослого населения. Основным патогенетическим механизмом в течение бронхиальной астмы является хроническое воспаление в респираторной системе, имеющее многофакторный и полиморфный характер. Предполагается, что одним из механизмов поддержания этого воспаления может быть нарушение цитокиновой и, в частности, адипокиновой сигнальной системы. К наиболее исследованным адипокинам относятся лептин, адипонектин, резистин, участие которых многие авторы считают важным в патогенезе бронхиальной астмы [2]. Еще одним перспективным, но малоисследованным адипокином является апелин. Этот белок представлен в организме большим количеством вариантов, различающихся по количеству аминокислот, входящих в состав, и образующихся из единого белка-предшественника. Наименьший по молекулярной массе апелин (из активных форм) – апелин-12, наибольший – апелин-36.

Единственным известным рецептором, способным связываться с различными изоформами апелина, является APJ-рецептор. Этот рецептор относится к группе трансмембранных семидоменных рецепторов, связанных с G-белком. Апелин/APJ – система представлена практически во всех тканях организма и, в частности, в клетках бронхолегочной системы [104].

Обсуждается возможный бронходилатирующий эффект апелина, опосредованный NO-зависимым механизмом, при различных патологических состояниях, а также гиперреактивности бронхов [51]. Предполагается противовоспалительное действие апелина, в том числе и при патологии бронхолегочной системы [38, 44, 83], влияние его на клетки воспаления и продукцию цитокинов [63, 83].

Исследований о влиянии апелина на течение патологических процессов в легких у человека крайне мало. Так, отмечалось снижение апелина-36 плазмы крови у больных хроническими паренхиматозными заболеваниями легких [50]; получены данные о повышении апелина плазмы у пациентов с обструктивным сонным апноэ и снижение уровня апелина на фоне CPAP-терапии [54], вероятнее всего, в связи с нормализацией уровней гипоксемии, которая является важным фактором, изменяющим уровень экспрессии апелина; наблюдалось повышение уровня апелина-12 в плазме крови у детей страдающих аллергическим вариантом бронхиальной астмы в фазе ремиссии [87].

Важным аспектом является также возможное паракринное действие апелина [20], оценка которого в легких человека не проводилась.

В отечественной литературе данные о вовлечении апелин/APJ-системы в развитие бронхолегочной патологии не представлены.

Основываясь на вышесказанном, можно предположить важную роль апелин/APJ-системы в функционировании и развитии бронхиальной астмы, однако малочисленность данных литературы, их противоречивость и фрагментарность не позволяют на сегодняшний день оценить вклад этой системы в патогенез бронхиальной астмы. В связи с этим изучение апелинергической сигнализации представляет интерес, как с фундаментальной точки зрения, так и с позиции разработки методов воздействия на бронхоконстрикцию и течение хронического воспаления при бронхиальной астме.

Цель работы

Установить особенности изменений в сигнальной системе апелин/APJ в плазме крови и мокроте при различных вариантах бронхиальной астмы.

Задачи исследования

1. Определить уровни адипокинов: апелина-12 и апелина-36 в плазме крови при аллергической и неаллергической бронхиальной астме в сопоставлении с контрольной группой.

2. Определить уровни адипокинов: апелина-12 и апелина-36 в мокроте у больных аллергической и неаллергической бронхиальной астмой.

3. Оценить корреляционные связи апеллина-12 и апеллина-36 в плазме крови и в мокроте с клиническими, лабораторными и функциональными (ФВД) показателями при различных вариантах заболевания.

4. Исследовать уровни APJ-рецептора в лимфоцитах периферической крови при аллергической и неаллергической бронхиальной астме в зависимости от фазы заболевания в сопоставлении с контрольной группой.

Научная новизна

1. Впервые выявлены изменения уровней апеллина-12 и апеллина-36 в плазме крови у взрослых больных бронхиальной астмой и проведен сравнительный анализ их корреляционных связей с клиническими, лабораторными и функциональными показателями.

2. Впервые у больных бронхиальной астмой выявлен феномен присутствия апеллина-12 и апеллина-36 в мокроте, показана связь их уровней с показателями ФВД. Выявление данного феномена рассматривается как проявление паракринного действия апеллина.

3. Впервые оценен уровень APJ-рецептора в лимфоцитах периферической крови у больных бронхиальной астмой, показано снижение количества рецепторов в фазе ремиссии, что рассматривается как проявление рецепторных изменений у больных бронхиальной астмой, вероятно, на фоне глюкокортикоидной терапии.

Практическая значимость

Результаты проведенного исследования создают научный базис для анализа взаимоотношений системы апеллин/APJ и выраженности как функциональных нарушений, так и воспаления в органе-мишени, а также в перспективе - для разработки таргетных лекарственных подходов, регулирующих активность этой системы.

Методология и методы исследования

В соответствии с разработанным методологическим подходом, включающим комплексный принцип оценки механизмов апеллин/APJ системы на различных уровнях, определялись уровни апеллина-12 и апеллина-36 на системном

уровне (в плазме крови), а также в органе мишени – легких, в мокроте больных бронхиальной астмой и рецепторный компонент в виде APJ-рецептора лимфоцитов периферической крови. Определение проводилось иммуноферментным методом по стандартному протоколу с использованием наборов реактивов «Human Apelin 36 ELISA Kit» (Cusabio, Китай), «Human Apelin 12 ELISA Kit» (MyBioSource, США), «Human Apelin Receptor ELISA Kit» (MyBioSource, США), «интерлейкин-4 – ИФА – Бест», «альфа-ФНО – ИФА – Бест», «Интерлейкин - 10 – ИФА – Бест», производства фирмы «Вектор-Бест» (Россия). Мокроту у больных бронхиальной астмой получали с помощью гипертонического раствора естественным путем без индукции и дальнейшей обработкой с использованием DPP-IV ингибиторов (Linco, St.Charles, Missouri, США), Sputolysin (Calbiochem, Сан-Диего, Калифорния, США) и диэтилентриаминпентауксусной кислоты (ДТРА).

В исследование не включались больные с анамнестическими или лабораторными данными, указывающими на заболевание сахарным диабетом, ВИЧ-инфекцией, а также пациенты, имеющие в анамнезе острое нарушение коронарного или мозгового кровообращения, онкологические заболевания.

Положения, выносимые на защиту

1. Уровни плазменных апелинов при бронхиальной астме изменены в зависимости от их формы: уровень апелина-12 повышается у больных БА как при аллергическом, так и неаллергическом вариантах заболевания, уровень апелина-36 - снижается у больных с неаллергическим вариантом БА по сравнению с практически здоровыми лицами. При этом плазменный индекс апелин-12/апелин-36 характеризует бронхиальную астму вне зависимости от её варианта.

2. При бронхиальной астме выявлен феномен присутствия апелина-12 и апелина-36 в мокроте, установлены корреляционные связи их уровней с показателями ФВД и клеточным составом мокроты. Роль данного феномена рассматривается в качестве протективной на уровне паракринной регуляции в легких.

3. Установлена зависимость уровня ARJ-рецептора лимфоцитов периферической крови от фазы БА, который в фазе ремиссии снижается и не зависит от варианта заболевания.

4. Наблюдаемые корреляционные связи уровней апелина-12 и апелина-36 с уровнями цитокинов (про-, противовоспалительных) в плазме крови отражают, по-видимому, протективное влияние этих апелинов при БА.

Апробация работы

Материалы диссертации представлялись на научно-практической конференции «Актуальные проблемы диагностики, терапии и реабилитации жителей блокадного Ленинграда и пациентов пожилого возраста» (Санкт-Петербург 2013); IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Здоровье – основа человеческого потенциала. Проблемы и пути их решения» (Санкт-Петербург 2014 г); «Булатовских чтениях» (Санкт-Петербург 2014, 2015); LXXV научно-практической конференции «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической медицины – 2014» (Санкт-Петербург 2014); LXXVIII научно-практической конференции «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической медицины – 2017» (Санкт-Петербург 2017).

По материалам диссертации опубликовано 9 печатных работ, из них 6 статей, в том числе 5 в журналах, рекомендованных ВАК.

Глава 1

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Общие сведения

В настоящее время в GINA (Global Initiative for Asthma) 2016 г. [49] бронхиальная астма (БА) определяется как гетерогенное заболевание, обычно характеризующееся хроническим воспалением в дыхательных путях. Несмотря на разработку стандартизации подходов терапии во всех странах мира и разработку ингаляционных глюкокортикостероидных препаратов (ИКС), что позволило добиться определенного контроля над течением заболевания и улучшить качество жизни пациентов, заболеваемость БА нарастает [12].

Впервые представление о БА, как о самостоятельном заболевании сформировал Адо А.Д.: «БА это семейство болезней бронхолегочного аппарата, объединенное общим клиническим признаком – удушьем». Была разработана классификация, по которой выделялись основные формы БА: атопическая и неатопическая. В 1982 году Г. Б. Федосеев [10] дополнил эту классификацию, выделив различные клинико-патогенетические варианты и этапы развития БА. Это позволило улучшить диагностику заболевания и усовершенствовать подходы к его лечению. В дальнейшем состояние преастмы и гиперреактивности бронхов стали рассматривать как манифестацию заболевания. В 90-х годах 20 века сформировалось представление об иммунном воспалении при БА, на фоне которого происходит процесс ремоделирования бронхов. Улучшилось понимание различий между вариантами БА.

Аллергический вариант бронхиальной астмы (АБА) характеризуется дебютом в раннем возрасте, сочетанием с аллергологическими заболеваниями (атопический дерматит, аллергический ринит), формированием сенсibilизации к различным аллергенам. В бронхах преобладает инфильтрация эозинофилами, CD4+ лимфоцитами, тучными клетками.

Неаллергический вариант бронхиальной астмы (НАБА) чаще имеет позднее начало, часто сопровождается хроническими инфекционными заболеваниями

(хронический синусит, тонзиллит), непереносимостью аспирина, назальными полипами. Манифестация заболевания часто происходит на фоне инфекционного фактора. Характерен нейтрофильный вариант цитогаммы.

А.Г. Чучалин с соавт. [13] рассматривают важность влияния респираторно-вирусной инфекции на развитие обострения и манифестацию бронхиальной астмы, механизмы формирования патологической гиперреактивности бронхов и хронического воспалительного процесса.

Г. Б. Федосеев с соавт. [10] замечают, что одна из важнейших задач современного изучения БА состоит в понимании причины персистирующего воспаления в бронхах и разработки новых, основанных на современных научных данных, лекарственных препаратов.

В ряду причин поддержания хронического воспалительного процесса многие авторы рассматривают цитокиновые и в частности адипокиновые нарушения.

Адипокины относятся к молекулам, которые синтезируются и выделяются из жировой ткани. К ним относят: фактор некроза опухоли α (TNF- α), интерлейкин-6 (IL-6), висфатин, интерлейкин-10 (IL-10), моноцитарный хемотаксический белок 1 (MCP-1), лептин, резистин, адипонектин, ингибитор активации плазминогена I типа (PAI-1) и многие другие [116]. Одним из недавно открытых адипокинов является апелин.

1.2 Общая характеристика апелина и APJ-рецептора

История изучения апелин/APJ системы началась в 1993 году, когда O'Dowd с коллегами [102] обнаружили генную последовательность, обладающую выраженным сходством с геном ангиотензинового рецептора 1 типа. При этом ангиотензин II не активировал данный рецептор. Ген APJ рецептора, состоит из 380 аминокислот и локализуется на длинном плече 11-й хромосомы. Исследователи отмечали большое сходство аминокислотной последовательности у разных млекопитающих. Так, крысиный рецептор гомологичен человеческому на 89%, а мышинный - на 91%.

APJ – это семидоменный трансмембранный рецептор, сопряжённый с G-белком. На мембране рецептор может быть как мономером, так и димером или олигомером с возможными взаимными превращениями. Соотношение их обычно смещено в сторону мономеров, однако стимуляция APJ апелином увеличивает число олигомеров.

Cai X. et al. [24] предполагают, что взаимопревращения димера и мономера могут быть важными для дальнейшей трансдукции сигнала. Они активируют различные G_i и G_q подвиды белков, однако, APJ-рецептор не способен активировать G_s -белок.

APJ-рецептор способен к интернализации [28] и ассоциации с другими рецепторами [79]. Cross-talk эффект связан с возможным изменением сигнальной трансдукции рецепторами, вовлеченными в него. При повышенном экзогенном поступлении апелина замечен эффект десенсibilизации, т.е. уменьшение количества рецепторов на мембране [15]. Все вышеописанные механизмы могут быть вовлечены в регуляцию активности апелин/APJ системы.

Кроме основной мембранной формы, APJ рецептор был также найден в ядре человеческих клеток мозжечка и гипоталамуса [73], а также в клетках легочного эпителия крыс [104].

В отсутствие лиганда новый рецептор именовали «сиротским» (орфанным), пока в 1998 г. из экстракта бычьего желудка не был выделен апелин [119].

Ген апелина находится в X хромосоме и кодирует 77-аминокислотный белок препроапелина [74]. Определение последовательности аминокислот в человеческом, бычьем, мышьином и крысином препроапелине показало высокую схожесть между ними и полную идентичность последних 22 аминокислот на С-конце [74, 119].

Было показано, что препроапелин находится в нативной ткани в виде димеров, соединенных дисульфидным мостиком [75]. Из препроапелина образуется 55-аминокислотный проапелин, который в дальнейшем укорачивается до активных пептидов, обозначаемых цифрами в зависимости от количества

аминокислотных остатков в их составе: апелин-36 (A36), апелин-19 (A19), апелин-17 (A17), апелин-13 (A13), апелин-12 (A12) и другие.

Кроме того, A13 может подвергаться посттрансляционному пироглутаминированию на уровне N-концевого остатка глутамина, становясь пироглутаматным апелином-13 (пирA13) [58, 119]. Такая посттрансляционная модификация присуща многим биологически активным пептидам и, как правило, предотвращает быструю деградацию белка. Активные формы апелина являются мономерами [75].

В молозиве крупного рогатого скота было выделено 46 различных пептидов апелина [96]. Разные изоформы апелина присутствуют почти во всех тканях организма, основными активными формами в плазме крови считаются A12, A13, пирA13, A17 и A36.

Изначально предполагалось, что активные формы апелина последовательно образуются из проапелина с помощью еще неизвестного фермента.

Однако недавние исследования поставили под сомнение эту гипотезу. K. Shin et al. [113] обнаружили, что протеин-конвертаза субтилизин/кексин типа 3 (PCSK3) способна образовывать A13 напрямую из проапелина. Это позволяет предположить, что разные эндопротеазы отвечают за синтез разных апелинов из проапелина. В таком случае мы не должны наблюдать зависимости количества A12 или A13 от количества A36 и других апелинов с большей молекулярной массой.

При изучении аспектов взаимодействия апелина с рецептором была выделена важная последовательность аминокислот Arg-Pro-Leu-Arg в структуре апелина и C-концевой фенилаланин, которые считаются ответственными за определенное конформационное состояние, обеспечивающее связывание с APJ [98]. Однако окончательно различия в функции и особенности фармакокинетики изоформ апелина не установлены.

Считается, что формы апелина различаются аффинностью. Сообщается, что более короткие апелины связываются с рецептором прочнее более длинных [58]. Было показано, что интернализированный A13 и A17 рецептор быстро

возвращается к работе, в то время как интернализированный A36 рецептор долго остается в связанном состоянии, вызывая пролонгированную биологическую активность и может быть разрушен в лизосоме [26].

Апелин-17 активно связывался и интернализировал рецептор, однако, постепенное отщепление аминокислот с N-конца снижало интернализационный эффект. При исчезновении эффекта интернализации (у апелина-11), даже при сохранении способности связывать APJ-рецептор, апелин терял свои известные физиологические свойства. Авторы предполагают, что связывание с рецептором и его интернализация функционально диссоциированы и, возможно, зависят от конформационных состояний рецептора, стабилизированных связью с различными апелинами [41].

Связывание апелина с APJ активирует сигнальные каскады вторичных месенджеров, что приводит к активации центральных сигнальных молекул.

Так, после соединения с Gi-белком происходит активация Etk и Akt путей, а при взаимодействии с Gq – фосфолипазы C и протеинкиназы C, что приводит к активации ядерного фактора- κB и увеличению внутриклеточного Ca^{++} [38].

Также есть данные о взаимодействии Jak/Stat механизма и A/APJ системы. Функциональность мест связывания Stat3 была продемонстрирована увеличением активности промотора апелина в ответ на воздействие гиперэкспрессии Stat3, но не Stat1 или Stat5, а также полным снижением активности промотора апелина при мутации сайта Stat3 [57].

Период полувыведения апелина у человека около 5-8 минут. К настоящему времени схема деградации апелина до конца не изучена. Известно, что ангиотензин-превращающий фермент II замешан в инактивации апелинов, однако, деградация апелинов способна проходить и другими, еще не исследованными путями [65].

1.3 Экспрессия апелина и APJ-рецептора в тканях

APJ представлен практически во всех органах и тканях. В центральной нервной системе крыс мРНК найдена во многих отделах: супраоптическое и

паравентрикулярное ядра гипоталамуса, кора, таламус, базальные ганглии и другие [37, 94]. Наибольшая экспрессия мРНК в периферических тканях крыс определяется в легких и сердце. У человека экспрессия APJ была найдена в ткани спинного мозга, мозолистом теле, селезенке, плаценте и легочной ткани [58, 94]. Также APJ экспрессируется в макрофагах [128] и лимфоцитах [59].

У крыс экспрессия мРНК апелина широко представлена в центральной нервной системе, а также в периферических тканях с максимальным уровнем в легких [94, 101]. У человека мРНК апелина найдена в тканях центральной нервной системы: хвостатом ядре, гипоталамусе, таламусе, гиппокампе, базальной формации и в лобной коре, а также в спинном мозге, мозолистом теле, черном веществе среднего мозга, миндалевидном теле [74, 94].

В периферических тканях человека экспрессия мРНК апелина была обнаружена в плаценте, почке, сердце, легком и молочной железе [94].

При дальнейшем изучении стало понятно, что почти любая ткань организма экспрессирует апелин и APJ.

В легких экспрессия апелина и APJ найдена в клетках бронхиального и альвеолярного эпителия, альвеолоцитах 1 и 2 типов, эндотелии и гладкомышечных клетках альвеолярных кровеносных сосудов [38, 104].

Была показана роль апелин/APJ системы в эмбриональном развитии легких. Действие апелинергической системы на развитие легких носило ингибирующий характер и было дозозависимым [104], однако пока нет окончательного понимания роли апелина на разных стадиях гестации.

Считается, что апелин оказывает значимую часть своего влияния паракринным путём, хотя и эндокринный путь остаётся очень важным [20].

1.4 Известные эффекты работы апелин/APJ системы

Гипотензивный

Доказано участие апелина в регулировании сосудистого тонуса и артериального давления. Так, внутривенное введение апелина крысам сопровождалось снижением АД [120], отмечался дилатирующий эффект на вены

и артерии [32, 89]. Показан вазодилатирующий эффект апелина у человека [64]. Этот эффект имел NO-зависимый механизм [120], за счет активации APJ-рецепторов на поверхности эндотелиальных клеток. Апелин-APJ система обеспечивает транскрипцию и фосфорилирование эндотелиальной NO-синтазы, воздействуя на Gi-белки и фосфоинозитидный путь. Однако, вазодилатирующий эффект на сосуды обусловлен влиянием апелина на продукцию NO только на две трети, часть эффекта зависит от простаглицлинового пути [111]. При повреждении эндотелия и воздействии на APJ-рецепторы гладкомышечных клеток отмечалось вазоконстрикторное действие за счет активации Gq-белков с дальнейшим воздействием на фосфолипазу C и протеинкиназу C [89, 92].

Бронходилатирующий

При изучении действия апелина на бронхи нормальных и сенсibilизированных овальбумином крыс после воздействия ацетилхолина и тербуталина Gurzu B. et al. [51] отмечали бронходилатирующий эффект, опосредованный NO-механизмом. Так, ингибирование всех NO-синтаз (NOS) устраняло дилатирующий эффект апелина, а ингибирование индуцибельной NOS влияло на действие апелина незначительно.

Основываясь на вышесказанном, был предположен протективный эффект апелина при гиперреактивности дыхательных путей, осуществляемый через NO-зависимый механизм, главным образом, посредством конститутивной NOS.

Инотропный

Еще одним известным действием апелина является мощный дозозависимый положительный инотропный эффект как на моделях животных *in vivo* [22, 118], так и на сердечной ткани человека *in vitro* [89]. При этом данный эффект не зависит от ингибирования NO-синтазы, блокады адренергической системы и рецепторов эндотелия. Было предположено, что инотропный эффект осуществляется за счет повышения доступности к внутриклеточному Ca^{2+} и в процесс осуществления положительного инотропного действия могут быть вовлечены фосфолипаза C, протеинкиназа C, H^+ и Na^+/Ca^+ -транспортные системы сарколеммы [118].

Однако мыши, нокаутированные по гену апелина и APJ, демонстрируют прогрессивное ухудшение сердечной сократимости независимо от внутриклеточного транспорта ионов Ca^{2+} [28].

Основными путями инотропного воздействия апелина в настоящий момент в литературе рассматриваются: повышение сократимости миокарда под влиянием апелина, связанного с Na^+/H^+ -обменником [68] и повышение чувствительности миофибрилл к Ca^{2+} через MLCK, протеинкиназу C и фосфорилирование ERK1/2 [105].

Было предположено, что APJ-рецепторы могут работать и как хеморецепторы, активируемые апелином, и как механорецепторы, реагирующие на перегрузку давлением [111]. Полумаксимальная эффективная концентрация апелина в качестве инотропного агента в сердечной ткани человека колебалась от 40 до 125 пМ [89].

Ангиогенный

Апелин считается значимым фактором, обеспечивающим формирование новых кровеносных сосудов за счет влияния на пролиферацию и миграцию эндотелиальных и гладкомышечных клеток. Кроме этого, рассматривается его роль в развитии сердечно-сосудистой системы.

Показана роль апелина в ангиогенезе сосудов сетчатки глаза [69], его митогенная активность по отношению к пупочным эндотелиальным клеткам [93], участие в пролиферации гладкомышечных клеток сосудов через A-pERK1/2-циклин D1 сигнальный путь [77].

Считается, что апелин/APJ система участвует в патофизиологии ангиогенеза при портальной гипертензии [122], опухолевых процессах [117], патологии легочной системы [38].

Интересным представляется исследование действия апелина на развитие сердечно-сосудистой системы у мышей: так, мыши, дефектные по гену апелина, были жизнеспособны, хотя и со сниженной активностью образования сосудов, а мыши, дефектные по APJ, демонстрировали пороки развития сердечно-сосудистой системы [28].

Heng Zeng et al. [133] высказали предположение, что в ангиогенную активность белка вовлечен сиртуин-3.

Антиапоптотический

Апелин ингибирует апоптоз в различных типах клеток: кардиомиоцитах [134], эндотелиальных клетках [133], клетках Мюллера [80], остеобластах [129].

Апелин повышал экспрессию Bcl-2 белка (антиапоптотического) и подавлял белок Вах (апоптотический) в гладкомышечных клетках сосудов. Предположительно он оказывал свое действие через APJ/PI3-K/Akt сигнальный путь. Влияние апелина на Вах/Bcl-2 соотношение, возможно, связано с прямым действием на экспрессию этих белков в гладкомышечных клетках [34].

Еще одной точкой приложения антиапоптотического действия апелина рассматривается его ингибирующая активность на каспазу-3 [31, 42].

Апелин способен подавлять аутофагию в кардиомиоцитах [67] и нервных клетках [19] в ответ на повреждение. Предположительно, действие осуществляется через APJ/PI3-K/Akt путь.

Возможно, апелин/APJ система влияет на клеточную гибель, регулируя апоптоз и аутофагию.

Инсулиномиметический

Апелин ингибирует глюкозостимулированную инсулиновую секрецию клетками поджелудочной железы, в то же время восстанавливая чувствительность тканей к инсулину. Введение апелина вызывало снижение уровня глюкозы, за счет усиления её потребления скелетными мышцами и жировой тканью [103].

У инсулинрезистентных мышей с ожирением апелин улучшал толерантность к глюкозе и её утилизацию [26], в то же время мыши, лишённые гена апелина, обладали сниженной чувствительностью к инсулину [132]. У мышей, нокаутированных по гену апелина, высококалорийная диета через 18 месяцев вызывала ожирение. В митохондриях таких животных наблюдалось сниженное окисление глюкозы и жирных кислот.

Введение апелина восстанавливало окислительные процессы в митохондриях [17].

Предполагают, что апелин способен снижать количество жировой ткани у мышей с ожирением путем увеличения расхода энергии [55].

Однако, при центральном действии апелина на метаболизм глюкозы отмечался обратный эффект, вызывая гиперинсулинемию, гипергликемию и понижая чувствительность к инсулину у здоровых мышей [39].

Антитромботический

Апелин и его рецептор экспрессируются на тромбоцитах. Мыши, нокаутированные по гену апелина, имели более короткое время кровотечения и активации тромбоцитов, образования тромбина. Апелин препятствовал активации, агрегации и адгезии тромбоцитов, опосредованных тромбином и коллагеном.

Введение A13 удлиняло время кровотечения у мышей. Предполагают, что действие апелина на активность тромбоцитов происходит через влияние на интегрин $\alpha\text{IIb}\beta_3$, подавление мобилизации кальция по PI3K пути, ингибирование синтеза тромбоксана A2 и стимуляцию продукции циклического гуанозинмонофосфата [16].

Антиоксидантный

Апелин способен проявлять антиоксидантную активность за счёт уменьшения активных форм кислорода (ROS). Этот эффект был найден в адипоцитах, где A13 снижал уровень ROS, уменьшал высвобождение пероксида водорода (H_2O_2) из клеток. При блокаде APJ эффект от A13 пропадал [121]. Также, введение A13 снижало уровень малонового диальдегида (продукт перекисного окисления липидов, маркер оксидативного стресса), и, вместе с тем, повышало уровень глутатиона (антиоксидант) [38].

Zeng H. et al. [133] предположили, что в антиоксидантной активности апелина замешен сиртуин-3, поскольку у мышей, нокаутных по гену сиртуина-3, снижение ROS при введении апелина было меньше.

В культуре кардиомиоцитов A13 уменьшал образование малонового диальдегида и супероксидного анион-радикала, в то же время увеличивая экспрессию супероксиддисмутазы (фермент, утилизирующий O_2^-) [53, 134].

Подавление пирА13-ым окислительного стресса, индуцированного H_2O_2 , сопровождалось повышением уровня мРНК и активности каталазы (фермент, отвечающий за разложение H_2O_2) [36, 48].

Влияние на жидкостный гомеостаз

Обезвоживание вызывает снижение концентрации апелина в плазме и одновременно повышение в гипоталамусе, особенно в крупноклеточных нейронах паравентрикулярного и супраоптического ядер. При этом динамика изменений вазопрессина обратная [107].

У 10 взрослых мужчин были изучены взаимовлияния осмолярности плазмы, вазопрессина и апелина. Повышение осмолярности вызывало снижение уровня апелина и повышение уровня вазопрессина в плазме. При снижении осмолярности наблюдался обратный эффект – увеличение уровня апелина и снижение уровня вазопрессина [18].

Внутривенное введение А17 крысам увеличивало диурез; действие имело дозозависимый эффект [61]. Интрацеребральное введение апелина мышам ингибировало активность вазопрессиновых нейронов и высвобождение вазопрессина, таким образом уменьшая концентрацию вазопрессина в плазме и усиливая диурез [37].

Как известно, обезвоживание значительно снижает объем мочи и увеличивает ее осмолярность. Мыши с дефектом гена APJ-рецептора были не способны концентрировать мочу. Авторы предполагают, что нарушение жидкостного гомеостаза у мышей с дефектом в апелин/ APJ системе связано с влиянием этой системы на секрецию вазопрессина [108].

Фибротический/антифибротический

В литературе представлены неоднозначные данные о влиянии апелина на процесс фиброобразования. Полученные результаты зависели от ткани и органа, в котором проводилось исследование. Hu P.F. et al. [60] отмечают негативное участие апелина в развитии остеохондроза за счет его катаболической роли в метаболизме хряща.

Наблюдалась негативная регуляция апелином уровня коллагена II. В тоже время в другом исследовании у крыс с циррозом печени отмечалось стимулирующее действие апелина на синтез коллагена I. Авторы рассматривают профибротическую роль апелина при циррозе печени, отмечая, однако, более значимое паракринное действие [95].

Wang L.Y. et al. [126] предполагают антифибротический эффект апелина. Они отмечали снижение уровня плазматического апелина при фиброзе и возрастание экспрессии APJ в поврежденных почках. При лечении A13 пропадали изменения, приводящие к фиброзу, в том числе и повышенная коллагеновая продукция, наблюдаемые на фоне TGF- β 1-фактора.

При исследовании апелина в легких предполагалось его противофибротическое действие. Так, при модели легочной гипертензии отмечали повышение экспрессии фибробластного ростового фактора-2 на фоне дефицита апелина [70].

Введение апелина способствовало уменьшению отложения фибрина при гипероксия-индуцированном повреждении легких у мышей [38].

Противовоспалительный/провоспалительный

Многими авторами предполагается противовоспалительная активность апелина. A13 и A36 подавляли экспрессию интерферона- γ (INF- γ), интерлейкина-2 (IL-2) и интерлейкина-4 (IL-4) в клетках селезенки [52].

Введение апелина снижало уровни различных провоспалительных цитокинов в плазме крови [71, 83, 103], ингибирующе действовало на нейтрофильную, макрофагальную и моноцитарную инфильтрацию [36, 76, 83], уменьшалась экспрессия молекул адгезии (ICAM-1 и VCAM-1) [83, 130].

При воздействии апелина на культуру макрофагов отмечалось уменьшение экспрессии фактора некроза опухоли- α (TNF- α), моноцитарного хемотаксического белка-1 (MCP-1), интерлейкина-8 (IL-8) и интерлейкина-6 (IL-6) [63, 76, 103].

Апелин оказывал действие на кровеносные и лимфатические сосуды, уменьшая их проницаемость в зоне воспаления, вызванного различными агентами

[110]. Уменьшение отека и сосудистой проницаемости наблюдается в ответ на введение апелина при легочном повреждении у крыс [44].

На фоне лечения A13 мышей с острым нарушением мозгового кровообращения отмечалось повышение интерлейкина-10 (IL-10), схожий эффект получен и при остром панкреатите [31, 42].

В то же время, в некоторых работах отмечается провоспалительная активность апелина. Целый ряд исследований влияния апелина на молекулы адгезии в эндотелиальных клетках человеческой пупочной вены отмечает стимуляцию экспрессии ICAM-1, VCAM-1 и MCP-1 и, соответственно, возрастание адгезии моноцитов через различные сигнальные пути [78, 81, 91]. Апелин стимулировал экспрессию интерлейкина-1 β (IL-1 β), металлопротеиназ, MCP-1, TNF- α и подавлял экспрессию IL-10 в хрящевой ткани и BV2 клетках микроглии [29, 60].

1.5 Синтезированные агонисты и антагонисты APJ-рецептора

Изучение биологических эффектов апелин/APJ системы, наблюдаемые протективные действия апелина, неудобство применения биологических апелинов обусловили необходимость в разработке структурных аналогов апелина.

Для решения проблемы быстрой деактивации апелина созданы молекулы с защищенным N-концом, циклические аналоги апелина и синтетические непептидные вещества, способные активировать APJ-рецептор.

Wang W. et al. [127] при изучении различных аналогов пирA13 отмечали более выраженный положительный эффект одного из аналогов в сравнении с природным пирA13.

При изучении модифицированного A36 отмечалась менее выраженная деградация молекулы с более длительным сохранением её биологических эффектов [66]. Продемонстрирована способность циклических аналогов A12 влиять на внутриклеточные сигнальные системы [56]. Изучение циклических фрагментов A13 показало, что определенная последовательность аминокислот определяет β -поворот молекулы, ответственный за её связь с рецептором [86].

Известен непептидный агонист APJ-рецептора: E339-3D6 был способен интернализировать рецептор, частично влиял на снижение образование цАМФ и препятствовал вазоконстрикции с большим эффектом, чем A17 [62].

Macaluso N.J. et al. [85] создали селективный антагонист APJ, способный конкурентно ингибировать рецептор. Известны и менее селективные антагонисты [90].

1.6 Апельин/APJ в бронхо-лёгочной системе

Как обсуждалось ранее, APJ-рецептор и его лиганд обнаружены в различных клетках легких: бронхиальный и альвеолярный эпителий, альвеолоциты 1 и 2 типов, альвеолярные кровеносные сосуды (эндотелий, гладкомышечные клетки).

Кроме того, Pairo P. et al. [104] было показано вовлечение апельин/APJ системы в эмбриональное развитие лёгких у крыс. В эмбриональной легочной ткани наблюдалась высокая экспрессия апельина и APJ, причем последний был представлен виде мономерных, димерных и олигомерных форм. Обнаружено, APJ-рецептор имеет несколько локализаций в бронхиальном эпителии: мембранную, ядерную (известна так же в ткани головного мозга) и цитоплазматическую.

Экспрессия апельина наиболее выражена в ранние сроки гестации; на поздних сроках гестации экспрессия апельина преобладала в бронхиальном и альвеолярном эпителии, а так же эндотелии сосудов, у взрослых особей – в альвеолярном эпителии. Авторы предполагают, что апельин способен тормозить эмбриональное развитие легких путем супрессии P38 и JNK сигнальных путей.

Присутствие апельина и его рецепторы в тканях центральной нервной системы, предполагает и центральные эффекты при активации этой системы, в том числе и в лёгких. Было показано, что микроинъекции A13 в ядро солитарного тракта приводили к апноэ за счет воздействия на работу диафрагмы, а микроинъекции A 13 в ростральный вентролатеральный отдел продолговатого мозга, наоборот стимулировали работу диафрагмы [112].

Эти данные еще раз демонстрируют важность паракринной и аутокринной регуляции в апелин/APJ системе.

При исследовании действий апелина у недоношенных новорожденных крыс с бронхопульмональной дисфункцией, наблюдался положительный эффект от его введения: терапия A13 в течение 9 дней приводила к снижению правожелудочковой гипертензии, улучшению альвеоризации и ангиогенеза, снижению количества белка в бронхоальвеолярной жидкости, уменьшению миграции в легкие нейтрофилов и макрофагов и уменьшению толщины альвеолярной перегородки. В целом отмечалось уменьшение воспалительного процесса в легких [38].

При исследовании апелин/APJ системы у крыс с острым респираторным дистресс-синдромом отмечалось повышение уровня апелина в плазме, легких и бронхо-альвеолярном лаваже. Увеличивалась экспрессия APJ в поврежденной легочной ткани. При ингибировании апелин/ APJ системы наблюдалось более выраженное повреждение лёгочной ткани, а при терапии A13 снижалась инфильтрация иммунными клетками легочной ткани и их содержание в бронхо-альвеолярном лаваже, уменьшалась толщина альвеолярной перегородки, выраженность отека ткани, снижались признаки оксидативного стресса.

Схожее действие апелина отмечалось и при LPS-индуцированном повреждении легких [44].

Исходя из вышесказанного можно предположить наличие противовоспалительного, протективного эффектов апелина в легких.

Предполагают протективный эффект апелин/ APJ системы при лёгочной гипертензии. Отмечалось снижение экспрессии апелина в эндотелии легочных артерий у мышей с лёгочной гипертензией и уровня апелина в сыворотке крови людей с повышенным давлением в лёгочной артерии. Предполагается, что снижение апелина уменьшает его вазодилатирующий эффект, усугубляя течение заболевания [27].

У собак с острой эмболией легочных артерий введение апелина уменьшало давление в лёгочных артериях [47], подобный эффект наблюдался и у крыс [45].

Клинических исследований апелин/APJ системы у людей с легочной патологией очень мало. Известно о снижении уровня A36 в плазме крови у больных паренхиматозными заболеваниями лёгких, повышение уровня плазматического A12 у больных сонным апноэ и бронхиальной астмой [43, 50, 87].

В отечественной литературе нами не найдено работ по изучению апелина и его рецептора при заболеваниях лёгких.

Всё вышеперечисленное указывает на рациональность исследования апелин/ APJ системы при бронхолёгочных заболеваниях, и в частности, при бронхиальной астме.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Клиническая характеристика обследованных лиц

Нами было обследовано 127 человек. Из них 95 больных бронхиальной астмой и 32 практически здоровых лиц.

Всем обследованным больным проводили стандартное клиническое и лабораторное обследование: клинический анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализ крови (калий, натрий, общий белок, общий билирубин, АСТ, АЛТ, глюкоза, креатинин, общий холестерин), аллергологическое тестирование с постановкой кожных скарификационных проб, электрокардиографии, при наличии мокроты – посев мокроты и цитологическое исследование мокроты. Для оценки состояния бронхолегочной системы проводились флюорография, запись спирограммы с определением ОФВ1, ЖЁЛ, ПОС, МОС50 и МОС75, запись плетизмографии с определением бронхиального сопротивления (Raw) и удельной проводимости бронхов (SGaw). Все показатели функции внешнего дыхания оценивались исходно и через 15 минут после ингаляции сальбутамола.

Диагноз БА устанавливался в соответствии с классификацией и критериями глобальной инициативы в диагностике, лечении и профилактики БА (GINA 2014).

В работу не брались больные БА, у которых был выявлен сахарный диабет, ВИЧ-инфекция, а так же при наличии в анамнезе острого нарушения мозгового кровообращения, острого нарушения коронарного кровообращения и онкологических заболеваний.

Среди больных БА были мужчины 38,9% и женщины 61,1%. Возраст больных БА находился в пределах от 18 до 65 лет, медиана (25 и 75 перцентили) возраста составили 40,0 (28,0 – 50,0) года. Длительность заболевания БА составила от 0,2 лет до 48 лет, медиана (25 и 75 перцентили) 8,0 (3,0 – 16,0) лет.

Первую группу с преимущественно аллергической БА составили 53 лиц (АБА), страдающие аллергическим вариантом БА и смешанным вариантом БА с

преобладанием аллергического варианта. Вторую группу составили 42 лица (НАБА), страдающие неаллергическим и аспириновым вариантами БА и смешанным вариантом БА с преобладанием неаллергического варианта.

Сравнительная характеристика больных БА представлена в таблицах 2.1.1, 2.1.2 и 2.1.3

Таблица 2.1.1 - Сравнительная характеристика групп некоторым признакам

Признак	ПЗЛ (1) n=32	АБА (2) n=53	НАБА (3) n=42	Р-значение по крит. Манна- Уитни
ИМТ кг/м ² Медиана (25 и 75 процентили)	25,23 (21,5 28,6)	24,5 (21,1 26,7)	26,15 (23,1 29,2)	$P_{1-2}>0,05$ $P_{1-3}>0,05$ $P_{3-2}>0,05$
Возраст, лет Медиана (25 и 75 процентили)	31 (27,0 44,0)	30 (23,5 40,5)	48,5 (40,7 56,2)	$P_{1-2}>0,05$ $P_{1-3}<0,001^*$ $P_{3-2}<0,001^*$
Длительность заболевания, лет Медиана (25 и 75 процентили)	-	9,0 (3,5 19,0)	6,0 (2,0 13,5)	$P_{3-2}>0,05$
Пол муж/жен	14/18	23/30	14/28	$P_{1-2}>0,05$ $P_{1-3}>0,05$ $P_{3-2}>0,05$

* - $p<0,05$

При анализе пола и возраста больных БА по группам в АБА мужчин 43,4% и женщин 56,6%, в НАБА мужчин 33,3% и женщин 66,7%. В группе практически здоровых было 43,8% мужчин и 56,3% женщин. Возраст больных АБА и в ПЗЛ был меньше, чем у больных НАБА.

Статистической разницы в группах АБА и НАБА по ИМТ не отмечается. В группе АБА было 45,3% лиц с избытком массы тела, в группе НАБА было 64,3% лиц с избытком массы тела. В группе практически здоровых лиц с избытком массы тела – 51,51%. Достоверной разницы по ИМТ между группой практически здоровых лиц и АБА, а также НАБА нет.

У больных БА отмечались следующие типы сенсibilизации по данным аллергологического анамнеза: наиболее часто встречалась бытовая сенсibilизация - 81,1%, эпидермальная сенсibilизация – 52,6%, пылевая сенсibilизация – 45,3%, лекарственная – 33,7%, пищевая аллергия – 32,6%, грибковая сенсibilизация – 7,4%. Всего 93,3% больных имели отягощенный аллергологический анамнез. Положительные результаты по кожным скарификационным аллергологическим тестам наблюдались у 51,6%, у 33,7% больных тесты не выполнялись в связи с наличием противопоказаний.

Таблица 2.1.2 - Сравнительная характеристика клинико-лабораторных признаков у групп больных БА

Признак	АБА Медиана (25 и 75 процентили)	n	НАБА Медиана (25 и 75 процентили)	n	P – значение. Манна- Уитни
1	2	3	4	5	6
Количество эритроцитов периферической крови ($10^{12}/л$)	4,7 (4,3 5,1)	53	4,6 (4,1 4,9)	42	$P>0,05$
Количество тромбоцитов периферической крови ($10^9/л$)	248,0 (213,0 285,0)	53	259,5 (219,0 298,0)	42	$P>0,05$
Количество лейкоцитов периферической крови ($10^9/л$)	7,4 (5,3 10,9)	53	7,7 (5,5 11,5)	42	$P>0,05$

Продолжение таблицы 2.1.2

1	2	3	4	5	6
Количество эозинофилов периферической крови (10^9 /л)	0,1 (0,02 0,3)	53	0,1 (0,02 0,2)	40	P>0,05
Количество нейтрофилов периферической крови (10^9 /л)	4,7 (2,7 10,7)	53	5,1 (3,0 9,1)	40	P>0,05
Количество лимфоцитов периферической крови(10^9 /л)	2,2 (1,7 2,8)	53	2,1 (1,7 2,5)	40	P>0,05
Количество базофилов периферической крови (10^9 /л)	0,03 (0,02 0,31)	53	0,03 (0,01 0,04)	40	P>0,05
СОЭ (мм/ч)	8,0 (5,0 13,0)	53	14,0 (9,5 20,0)	42	P=0,001 *
АЛТ (Ед/л)	21,5 (14,2 27,0)	52	19,0 (15,0 28,0)		P>0,05
Глюкоза (ммоль/л)	5,0 (4,8 5,5)	53	5,2 (4,8 5,5)	41	P>0,05
Креатинин (ммоль/л)	0,07 (0,06 0,08)	53	0,07 (0,06 0,07)	41	P>0,05
Билирубин общий (мкмоль/л)	13,3 (9,6 18,2)	53	13,4 (9,5 18,6)	41	P>0,05
Холестерин общий (ммоль/л)	4,8 (4,1 5,5)	52	5,4 (4,7 6,2)	41	P=0,006*
Протромбиновый индекс (%)	92,1 (86,1 95,8)	49	91,3 (87,8 95,0)	41	P>0,05
Протромбиновое время (сек)	11,4 (10,9 12,1)	45	11,5 (11,0 11,9)	39	P>0,05
АПТВ (сек)	31,3 (28,0 33,1)	44	31,1 (28,7 33,7)	34	P>0,05

Продолжение таблицы 2.1.2

1	2	3	4	5	6
Количество нейтрофилов в мокроте (%)	37,0 (28,5 46,0)	25	39,0 (30,0 47,7)	28	P>0,05
Количество эозинофилов в мокроте (%)	20,0 (14,0 30,0)	25	21,0 (16,2 23,7)	28	P>0,05
Количество макрофагов в мокроте (%)	19,0 (14,0 29,0)	25	20,0 (14,2 27,2)	28	P>0,05
Количество лимфоцитов в мокроте (%)	8,0 (7,0 10,0)	25	8,0 (6,2 10,0)	28	P>0,05
Количество реснитчатого эпителия в мокроте (%)	8,0 (2,0 11,0)	25	5,0 (2,0 11,5)	28	P>0,05

* - p<0,05

В клиническом анализе крови достоверная статистическая разница между вариантами БА наблюдалась только в отношении СОЭ (более высокое значение в группе НАБА). Показатели лейкоцитарной формулы в клиническом анализе крови не выявили межгрупповых различий. При анализе показателей цитологического исследования мокроты достоверных различий так же выявлено не было. Общий холестерин был выше в группе больных НАБА, по остальным биохимическим показателям, данным клинического анализа крови, АПТВ (активированное парциальное тромбопластиновое время), ПИ (протромбиновый индекс) и ПВ (протромбиновое время) достоверных различий между вариантами БА не наблюдалось.

Анализ анамнестических данных больных бронхиальной астмой позволил выделить особенности исследуемых групп.

Таблица 2.1.3 - Сравнительная характеристика анамнестических данных и наличия сопутствующей патологии больных БА

Признак	АБА	n	НАБА	n	p –значимость по крит. Манна-Уитни
Аллергический ринит, нет/есть	9/43	53	19/23	42	P=0,003*
Хронический тонзиллит, нет/есть	34/17	53	35/7	42	P>0,05
Хронический бронхит, нет/есть	27/26	53	10/32	42	P=0,007*
Кардиологическая патология, нет/есть	53/0	53	32/10	42	P<0,001*
Гастроэнтерологическая патология, нет/есть	25/28	53	9/33	42	P=0,01*
Патология щитовидной железы, нет/есть	47/6	53	32/10	42	P>0,05
Нефрологическая патология, нет/есть	47/6	53	36/5	42	P>0,05
Наследственная предрасположенность к аллергическим заболеваниям и бронхиальной астме, нет/есть	25/28	53	22/20	42	P>0,05
Курение, нет/есть	38/15	53	31/11	42	P>0,05

* - p<0,05

При сравнении данных анамнеза у больных БА видно, что хронический бронхит встречается чаще у больных НАБА. Аллергический ринит чаще

встречается у больных АБА, наличие хронических очагов инфекции ЛОР-органов в виде хронического тонзиллита характерно для всех больных БА. Как видно из таблицы, кардиологическая патология (ИБС, гипертоническая болезнь) встречается только у больных НАБА, с небольшой частотой. Гастроэнтерологическая патология чуть чаще встречается у больных НАБА. Различий по частоте встречаемости патологий щитовидной железы и нефрологической патологии не обнаружено. Курение среди больных БА встречалось редко, и его частота встречаемости не зависела от варианта БА.

Распределение больных по степеням тяжести течения БА представлено в таблице 2.1.4.

Таблица 2.1.4 – Распределение больных по степени тяжести и клинико-патогенетическим вариантам БА

БА	Степень тяжести течения заболевания					
	Легкая		Средняя		Тяжелая	
	n	%	n	%	n	%
АБА	15	28,3	38	71,7	-	-
НАБА	10	23,8	29	69,1	3	7,1
Всего	25	26,3	67	70,5	3	3,2

В группах больных БА представлены различные степени тяжести заболевания. В группе больных аллергическим вариантом БА не было больных с тяжелым течением заболевания, в группе с неаллергическим вариантом БА такие больные представлены незначительно. Две трети больных БА имеют среднюю степень тяжести течения.

Анализ ФВД представлен в таблице 2.1.5, анализ объема проводимой терапии больным с различными вариантами БА в период госпитализации представлен в таблице 2.1.6.

Таблица 2.1.5 - Сравнительная характеристика функции внешнего дыхания в обследуемых группах

Признак	НАБА		АБА		p –значимость по крит. Манна-Уитни
	Медиана (25 и 75 процентили)	n	Медиана (25 и 75 процентили)	n	
ЖЕЛ_0_фак	3,8 (3,0 4,5)	42	4,5 (3,6 5,3)	53	P=0,011
ЖЕЛ_1_фак	4,0 (3,2 4,7)	42	4,6 (3,7 5,5)	53	P=0,011
ООЛ_1_фак	2,3 (1,9 2,7)	37	2,0 (1,7 2,4)	46	P=0,045
ФЖЕЛ_0_фак	3,6 (2,9 4,3)	42	4,3 (3,5 5,0)	53	P=0,010
ФЖЕЛ_1_фак	3,8 (3,2 4,6)	42	4,4 (3,6 5,3)	53	P=0,016
ОФВ1_1_фак	2,9 (2,3 3,4)	42	3,4 (2,8 4,2)	53	P=0,09
СОС_1_фак	2,0 (1,4 3,1)	42	2,7 (2,0 3,9)	53	P=0,026
МОС75выд_1_фак	0,7 (0,5 1,2)	42	1,1 (0,8 2,0)	53	P=0,004
ПОСвд_0_фак	4,8 (3,5 5,6)	42	5,6 (4,0 6,6)	51	P=0,049
ПОСвд_1_фак	5,1 (3,8 5,8)	42	5,9 (4,5 7,6)	51	P=0,009
МОС50вд_0_фак	4,5 (3,3 5,5)	42	5,3 (3,7 6,4)	50	P=0,034
МОС50вд_1_фак	4,6 (3,3 5,5)	42	5,7 (4,2 7,2)	50	P=0,006

Примечание: 0 – проба до ингаляции β 2-адреномиметика; 1 - проба после ингаляции β 2-адреномиметика

В таблице 2.1.5 представлены только показатели ФВД имеющие достоверные различия при различных вариантах БА.

При сравнении видно, что у больных неаллергическим вариантом БА более сильно выражены нарушения показателей функции внешнего дыхания, соответствующие обструктивным изменениям, чем у больных аллергическим вариантом заболевания.

Таблица 2.1.6 - Сравнительная характеристика по объему проводимой терапии больным БА в период госпитализации

Показатели	АБА		НАБА		p – значимость
	Медиана процентили (25 75)	n	Медиана процентили (25 75)	n	
Суточная доза ИКС относительно эквивалентная будесониду, получаемая пациентом в период госпитализации (мкг)	570 (320 820)	43	650 (500 1140)	41	$P^1=0,025^*$
Доза парентеральных ГКС за время госпитализации в пересчете на преднизолон(мг)	173,0 (0,1-4 246,5)	25	213,0 (53,0 60,0)	29	$P^1>0,05$
Применение антибактериальной терапии; да/нет	15/38	53	16/25	41	$P^2>0,05$

Примечание: * - $p<0,05$; p^1 – значимость вычислялась по критерию Манна-Уитни (непараметрическая статистика); p^2 - значимость вычислялась по критерию Стьюдента для независимых выборок (параметрическая статистика); нормальность распределения проверена тестом Колмогорова-Смирнова.

Доза суточная доза ИГК была выше у больных НАБА, в сравнении с больными АБА. Не наблюдалось разницы в частоте применения антибактериальной терапии и величине дозы, назначаемых парентеральных ГКС при различных вариантах БА.

Для отбора практически здоровых лиц использовались следующие критерии: 1) отсутствие признаков любых бронхолёгочных заболеваний; 2) отсутствие признаков острых заболеваний в течение последнего месяца; 3) неотягощенный наследственный анамнез по БА и другим аллергическим

заболеваниям; 4) отсутствие признаков аллергических заболеваний; 5) отсутствие гипотензивной терапии; 6) отсутствие сахарного диабета, гипертонической болезни 2 и 3 стадии, гепатита В и С, ВИЧ-инфекции, онкологической патологии, аутоиммунной патологии, острого нарушения мозгового или коронарного кровообращения в анамнезе, других хронических заболеваний, сопровождающихся выраженными нарушениями функции органа или находящихся в фазе обострения.

Хронические заболевания в группе практически здоровых лиц были представлены: хроническим гастритом, мочекаменной болезнью, хроническим пиелонефритом, гипертонической болезнью 1 стадии, желчнокаменной болезнью, ГЭРБ.

У всех больных и практически здоровых лиц получали информированное согласие на проведение обследования.

2.2 Методы исследования

2.2.1 Определение уровня апелина-12 в плазме крови

Образцы плазмы заготавливались из венозной крови (не позднее, чем через 40 мин от момента получения), перемешанной с антикоагулянтом и центрифугированной при 2000 оборотах в течение 20 минут. Собранную плазму хранили при температуре минус 70 °С. Уровень апелина-12 в плазме определяли иммуноферментным методом (ИФА) при помощи набора реактивов «Human Apelin 12 ELISA Kit» (MyBioSource, США). Определение проводили с применением одношагового сэндвич-метода с использованием биотинных двойных антител и иммобилизованных на иммуносубстрате ферментов по стандартному протоколу.

Порядок проведения анализа:

1. Внесение в лунки платы стандартов 50мкл с 50 мкл стрептовидин-пероксидазы и 40 мкл исследуемых образцов с добавлением моноклональных

антител к апелину 12, меченых биотином по 10 мкл и 50 мкл стрептавидин-пероксидазы.

2. Инкубация при 37 °С в течение 60 мин.
3. Плату отмывали 5 раз промывочным буфером. Буфер удаляли с помощью вакуумной фильтрации
4. Добавление хромогенных растворов по 50 мкл каждого.
5. Инкубация 10 минут при 37 °С в темноте.
6. Добавление 50 мкл стоп-раствора и в течение 10 минут измерение оптической плотности при длине волны 450 нм. Производили считывание результатов с использованием прибора УНИПЛАТ – М версия 1.04.

2.2.2 Определение уровня апелина-36 в плазме крови

Образцы плазмы заготавливались из венозной крови (не позднее, чем через 40 мин от момента получения), перемешанной с антикоагулянтом и центрифугированной при 3000 оборотах в течение 30 минут. Собранную плазму хранили при температуре минус 70 °С. Уровень апелина-36 в плазме крови определяли иммуноферментным методом (ИФА) при помощи набора реактивов «Human Apelin 36 ELISA Kit» (Cusabio, Китай). Определение проводили с применением одношагового сендвич-метода с использованием двух антител и иммобилизованных на иммуносубстрате ферментов по стандартному протоколу.

Порядок проведения анализа:

1. Внесение в лунки платы стандартов 50 мкл с 50 мкл стрептавидин-пероксидазы или 10 мкл исследуемых образцов со специальным растворителем (40 мкл) и 50 мкл стрептавидин-пероксидазы.
2. Инкубация при 37 °С в течение 60 мин.
3. Плату отмывали 5 раз промывочным буфером. Буфер удаляли с помощью вакуумной фильтрации
4. Добавление хромогенных растворов по 50 мкл каждого.
5. Инкубация 10 минут при 37 °С в темноте.

6. Добавление 50 мкл стоп-раствора и в течение 15 минут измерение оптической плотности при длине волны 450 нм. Производили считывание результатов с использованием прибора УНИПЛАТ – М версия 1.04.

2.2.3 Определение уровней цитокинов в плазме крови (интерлейкин-10, интерлейкин-4, фактора некроза опухоли - альфа)

Образцы плазмы заготавливались из венозной крови (не позднее, чем через 40 мин от момента получения), перемешанной с антикоагулянтом и центрифугированной при 3000 оборотах в течение 15 минут. Образцы плазмы крови хранили при температуре -70°C . Определение уровня цитокинов проводилось с использованием трехстадийного сэндвич-метода с помощью наборов реагентов для иммуноферментного определения концентрации цитокинов в биологических жидкостях человека и культуральных средах производства «Вектор-Бест» на 96 лунок: «интерлейкин-4 – ИФА – Бест», «альфа-ФНО – ИФА – Бест», «Интерлейкин-10 – ИФА – Бест».

Порядок проведения анализа:

1. В лунки стрипов вносилось по 100 мкл раствора для разведения образцов и 100 мкл исследуемых растворов или стандартов.
2. Инкубация в течение 120 мин при соответствующей температуре в шейкере с частотой 700 об/мин.
3. Плату отмывали 5 раз промывочным буфером. Буфер удаляли с помощью вакуумной фильтрации.
4. Внесение 100 мкл биотинилированных антител к цитокину.
5. Инкубация в течение 60 мин при соответствующей температуре в шейкере с частотой 700 об/мин.
6. Плату отмывали 5 раз промывочным буфером. Буфер удаляли с помощью вакуумной фильтрации.
7. Внесение 100 мкл стрептавидин-пероксидазы хрена.
8. Инкубация в течение 30 мин при соответствующей температуре в шейкере с частотой 700 об/мин.

9. Плату отмывали 5 раз промывочным буфером. Буфер удаляли с помощью вакуумной фильтрации.
10. Внесение 100 мкл тетраметилбензидина (субстрат пероксидазы).
11. Внесение 100 мкл стоп-реактанта и в течение 10 минут измерение оптической плотности при длине волны 450 нм. Производили считывание результатов с использованием прибора УНИПЛАТ – М версия 1.04.

2.2.4 Определение рецептора APJ в мононуклеарах (лимфоцитах) периферической крови.

Мононуклеары выделяли из венозной крови, перемешанной с антикоагулянтом. Крови давали отстояться при температуре 37 °С в течение 40 минут. Далее отстоявшуюся часть наслаивали на градиент плотности «Lymphoseparatium Medium» (MP Biomedicals, США) в расчете 2:1 и центрифугировали 30 мин при 400g. Образовавшееся в интерфазе кольцо клеток собирали и трижды отмывали RPMI. Выделенные клетки в течение 60 минут инкубировали в среде IMDM при температуре 37 °С в чашках Петри для осаждения моноцитов на пластик. Собранную взвесь лимфоцитов дважды отмывали натрий-фосфатным буфером (pH 7,2) и доводили до концентрации 100×10^6 клеток/мл. Клетки дважды замораживали при минус 20 °С и размораживали для разрушения клеточных мембран. Клеточный лизат центрифугировали в течение 5 минут при 5000g и 2-8 °С. Полученные образцы хранили при температуре -20 °С.

Концентрация APJ в образцах определялась с использованием «Human Apelin Receptor ELISA Kit» (MyBioSource, США) двухшаговым сэндвич методом.

1. В лунки платы добавляли по 100 мкл стандартов или образцов и инкубировали 2 часа при температуре 37 °С.
2. Удаляли избытки жидкости с помощью вакуумной фильтрации, не промывая.
3. Внесение 100 мкл биотинилированных антител.
4. Инкубация в течение 1 часа при температуре 37 °С.

5. Плату отмывали 3 раза промывочным буфером. Буфер удаляли с помощью вакуумной фильтрации.
6. Внесение 100 мкл стрептавидин-пероксидазы хрена с дальнейшей инкубацией в течение 1 часа при температуре 37 °С.
7. Плату отмывали 5 раз промывочным буфером. Буфер удаляли с помощью вакуумной фильтрации.
8. Внесение 90 мкл тетраметилбензидаина.
9. Инкубация в течение 20 минут при температуре 37 °С в темноте.
10. Внесение 50 мкл стоп-реагента и в течение 5 минут измерение оптической плотности при длине волны 450 нм. Производили считывание результатов с использованием прибора УНИПЛАТ – М версия 1.04 с длиной волны 450 нм.

2.2.5 Исследование апелина-12, апелина-36 и цитокинов в мокроте.

Мокроту больных БА получали естественным путем (без индукции). Сбор проводили в стерильный контейнер с плотно закрывающейся крышкой. Не позднее чем через 30 минут в образцы добавляли раствор ингибитора протеаз (DPP-IV ингибиторов, Linco, St Charles, USA) из расчета 20 мкл на 1 мл образца мокроты. Далее образец гомогенизировали с добавлением 0,1% раствора дитиотреола 1:1 с мокротой (Sputolysin, Calbiochem, США) путем встряхивания на водяной бане при температуре 37 °С в шейкере в течение 30 мин. Гомогенизированную мокроту центрифугировали при 3000 об/мин., в течение 5-10 минут. Аликвоту смешивали с 10 мкл/мл диэтилентриаминпентауксусной кислоты (ДТРА) и замораживали при температуре -70 °С.

Уровни апелина-12, апелина-36, интерлейкина-10, интерлейкина-4, интерлейкина-6 и TNF α определяли иммуноферментным методом наборами реактивов «Human Apelin 36 ELISA Kit» (Cusabio, Китай), «Human Apelin 12 ELISA Kit» (Cusabio, Китай), «интерлейкин-4 – ИФА – Бест», «альфа-ФНО – ИФА – Бест», «Интерлейкин-10 – ИФА – Бест» по протоколам, описанным ранее.

Работа выполнена на кафедре госпитальной терапии ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, в межклинической лаборатории физиологии дыхания ПСПбГМУ

им. акад. И.П. Павлова. Определение уровней цитокинов проводилось в Центральной клинико-диагностической лаборатории ПСПбГМУ им. акад. И.П.Павлова.

2.3 Методы статистической обработки

Статистический анализ результатов исследования выполнен с помощью компьютерной программы SPSS для Windows (Statistical Package for the Social Science) русифицированная версия 21.0.

Статистическую обработку результатов исследований проводили с помощью методов параметрической и непараметрической статистики.

При сравнении групп вычисляли медианы, 25-й и 75-й процентиля.

Нормальность статистического распределения проверяли тестом Колмогорова-Смирнова.

Для оценки межгрупповых различий количественных показателей использовались t-критерий Стьюдента для независимых выборок; ранговый критерий Вилкоксона-Манна-Уитни при использовании методов непараметрической статистики.

Для проверки равенства медиан нескольких выборок (более двух) использовался непараметрический критерий Краскала-Уоллиса для независимых выборок.

Для сравнения парных (зависимых) выборок использовался парный критерий Вилкоксона (непараметрическая статистика).

Также использовались методы линейного корреляционного анализа с вычислением коэффициента корреляции по Пирсону (r) и Спирману (ρ), выполнялся факторный анализ с использованием метода главных компонент и метода вращения матрицы Варимакс.

Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Глава 3

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Характеристика уровня апелина-12 в плазме крови

Результаты оценки уровней апелина-12 в плазме крови при различных вариантах и фазах течения бронхиальной астмы и в группе практически здоровых лиц представлены в таблице 3.1.1.

Таблица 3.1.1 - Уровни апелина-12 в плазме крови (пг/мл) в обследованных группах

Группа обследования	n	Медиана и процентиля (25 75)	Достоверность различий в сравнении с ПЗЛ
АБА	51	405,52 (308,30 480,27)	$P^1 < 0.001^*$
НАБА	41	372,09 (296,15 511,84)	$P^1 < 0.001^*$
Больные БА в фазе ремиссии	5	289,62 (159,87 485,73)	$P^2 < 0.001^*$
Больные БА в фазе обострения	88	393,76 (308,54 487,47)	
Практически здоровые лица (ПЗЛ)	32	253,66 (127,58 323,59)	

Примечание: знаком* отмечены статистически значимые различия. Для определения уровня значимости P^1 использован критерий Стьюдента для независимых выборок; нормальность распределения проверена тестом Колмогорова-Смирнова. Для определения уровня значимости P^2 использован критерий Краскала-Уолиса (непараметрическая статистика).

Мы обнаружили (таблица 3.1.1) значительное повышение уровня А12, как у больных АБА, так и НАБА в сравнении с контрольной группой. Достоверности различий уровней А12 между группами АБА и НАБА не получено.

У пациентов в фазе ремиссии также наблюдается повышенный уровень А12 в плазме крови, однако наибольшее значение уровня А12 наблюдается в фазе обострения.

Таким образом, можно предположить, что гиперацинемия при БА является одним из возможных механизмов патогенеза заболевания.

У больных БА как легкого течения, так и средней тяжести течения уровень А12 выше чем у ПЗЛ ($p < 0,001$, критерий Стьюдента). У больных БА тяжелого течения нет достоверных различий по уровню А12 в плазме крови с ПЗЛ.

Между группами больных БА с различной степенью тяжести отличий уровня А12 также не получено, однако следует отметить, что наименьшая медиана уровня А12 была у больных с тяжелым течением БА (313,73 $n=3$).

В таблице 3.1.2 представлены уровни А12 в зависимости от пола и ИМТ ($\text{кг}/\text{м}^2$) при различных вариантах БА и у ПЗЛ.

Таблица 3.1.2 - Уровни апелина-12 в плазме крови ($\text{пг}/\text{мл}$) в зависимости от пола и ИМТ ($\text{кг}/\text{м}^2$)

Группа обследования	n	Медиана и процентиля (25 75)	P-значение
1	2	3	4
ПЗЛ женщины	18	241,96 (128,46 330,66)	$p > 0,05$
ПЗЛ мужчины	14	253,67 (120,49 335,30)	
ПЗЛ с ИМТ ($\text{кг}/\text{м}^2$) < 25	16	206,42 (107,20 323,60)	$p > 0,05$
ПЗЛ с ИМТ ($\text{кг}/\text{м}^2$) ≥ 25	16	262,35 (151,50 332,60)	
АБА женщины	29	387,71 (294,96 480,00)	$p > 0,05$
АБА мужчины	22	408,93 (316,86 511,99)	
АБА с ИМТ ($\text{кг}/\text{м}^2$) ≥ 25	23	406,4 (340,09 510,05)	$p > 0,05$
АБА с ИМТ ($\text{кг}/\text{м}^2$) < 25	28	390,05 (277,73 476,77)	

Продолжение таблицы 3.1.2

1	2	3	4
НАБА женщины	27	372,09 (304,44 555,72)	p>0,05
НАБА мужчины	14	350,85 (274,74 451,84)	
НАБА с ИМТ(кг/м ²)<25	15	341,36 (292,13 464,90)	p>0,05
НАБА с ИМТ(кг/м ²)≥25	26	379,35 (301,90 534,20)	

Примечание: знаком* отмечены статистически значимые различия; для определения уровня значимости использован критерий Манна-Уитни для независимых выборок (непараметрическая статистика).

Как видно из таблицы №3.1.2, достоверных различий между больными с нормальным массой тела и избыточной массой тела в различных клинко-патогенетических группах, а так же в группе ПЗЛ нет, однако тенденция к небольшому увеличению A12 у лиц с ИМТ≥25 кг/м² наблюдается во всех группах.

Различий по уровню A12 между мужчинами и женщинами нет.

При выделении лиц с избыточной массой тела и с нормальной массой тела сохранялась достоверное повышение уровня плазматического A12 у больных БА по сравнению с контрольной группой.

При разделении больных БА и ПЗЛ по возрасту (старше и младше 45 лет) различий по уровню A12 не получено.

У больных бронхиальной астмой и практически здоровых лиц нами проводилось определение уровней цитокинов в плазме крови и в мокроте, а также совместно с д.м.н., доцентом Т.М. Лалаевой - адипокинов в плазме крови и в мокроте (адипонектин, резистин, лептин).

Рассмотрим корреляционные связи уровней A12 с цитокинами про- и противовоспалительного характера (таблица 3.1.3 и таблица 3.1.4).

Таблица 3.1.3 - Корреляционные связи уровней апелина-12 (пг/мл) с уровнями различных цитокинов и адипокинов в плазме крови

Показатель	ПЗЛ	АБА	НАБА	АБА+НАБА
TNF- α (пг/мл)	0,415; n =16 p>0,05	0,253; n =26 p>0,05	0,204; n =26 p>0,05	0,205; n =53 p>0,05
IL-10 (пг/мл)	0,056; n =16 p>0,05	-0,307; n =29 p>0,05	-0,426*; n =26 p=0,030	-0,348*; n =55 p=0,009
IL-4 (пг/мл)	0,374; n =13 p>0,05	0,409; n =19 p>0,05	-0,473*; n =19 p=0,041	0,032; n =38 p>0,05
Лептин нг\мл	-0,345; n=10 p>0,05	0,156; n =31 p>0,05	-0,310; n =14 p>0,05	0,026; n =45 p>0,05
Адипонектин мкг\мл	-0,103; n=10 p>0,05	-0,166; n =30 p>0,05	0,095; n =14 p>0,05	-0,098; n =44 p>0,05
Резистин нг\мл	0,164; n =10 p>0,05	-0,355; n =30 p=0,054	-0,754*; n =14 p=0,002	-0,433*; n =44 p=0,003

Примечание: знаком* обозначены статистически значимые корреляции; для выборок указаны значения коэффициента корреляция Спирмена (непараметрическая статистика).

Таблица 3.1.4 - Корреляционные связи уровней апелина-12 (пг/мл) и различных цитокинов, адипокинов в плазме крови в зависимости от тяжести течения БА

Показатель	АБА		НАБА	
	легкой степени тяжести	средней степени тяжести	легкой степени тяжести	средней степени тяжести
1	2	3	4	5
TNF α (пг/мл)	0,286; n =8 p>0,05	0,183; n =18 p>0,05	-0,800; n =4 p>0,05	0,502*; n =20 p=0,024
IL-10 (пг/мл)	-0,318; n =9 p>0,05	-0,341; n =20 p>0,05	0,200; n =4 p>0,05	-0,685*; n =20 p=0,001

Продолжение таблицы 3.1.4

1	2	3	4	5
IL-4 (пг/мл)	0,821*; n=7 p=0,023	0,266; n=12 p>0,05	0,500; n=3 p>0,05	-0,649*; n=14 p=0,012
Лептин нг/мл	-0,400; n=4 p>0,05	0,263; n=27 p>0,05	-	0,200; n=10 p>0,05
Адипонектин мкг/мл	-	-0,07; n=26 p>0,05	-	-0,383; n=10 p>0,05
Резистин нг/мл	-0,800; n=4 p>0,05	-0,237; n=26 p>0,05	-	-0,576; n=10 p=0,082

Примечание: знаком* обозначены статистически значимые корреляции; для выборок указаны значения коэффициента корреляция Спирмена (непараметрическая статистика).

При рассмотрении таблиц 3.1.3 и 3.1.4 видно, что А12 имеет обратную корреляционную связь с IL-10, причем достоверность этой связи возрастает с увеличением степени тяжести БА и выраженностью обострения. При этом в группе ПЗЛ взаимосвязи между А12 и IL-10 не прослеживается.

Корреляционная связь А12 и TNF-α была положительна и достигала уровня достоверности при НАБА средней степени тяжести. Между лептином, адипонектином и А12 наблюдались слабые, недостоверные корреляции различной направленности.

С резистином А12 имел устойчивую отрицательную корреляционную связь у больных БА в различных группах. В группе ПЗЛ наблюдается прямая корреляция уровня резистина с уровнем А12 в плазме крови, не достигающая уровня достоверности.

Корреляционная связь уровня А12 с уровнем IL-4 в плазме крови в зависимости варианта БА была различной: положительная корреляционная связь у больных АБА и отрицательная у больных НАБА. Причем наиболее сильно

выраженная связь наблюдалась при АБА легкой степени тяжести и НАБА средней степени тяжести.

В группе ПЗЛ корреляционная связь имеет положительную направленность, но не достигает уровня достоверности. При этом в группе АБА наблюдается более низкий уровень IL-4, по сравнению с НАБА ($n=37$ $p=0,022$ по Манну-Уитни), а также достоверное снижение IL-10 у больных в фазе обострения в сравнении с ПЗЛ ($n=71$ $p=0,008$ по Манну-Уитни).

Больным БА, имеющим мокроту, проводились цитологические исследования мокроты и посев мокроты на патогенную микрофлору. У части больных выделения мокроты не было. Учитывая, что наличие мокроты характеризует выраженность бронхитического компонента, мы выделили две разные группы (с наличием мокроты и без). Характер изменений A12 в этих группах представлен в таблице 3.1.5.

Таблица 3.1.5 – Уровни апелина-12 (пг/мл) в зависимости от выраженности бронхитического компонента

Группа обследования	n	Медиана и процентили (25 75)	Достоверность Различий
Больные БА с секрецией мокроты	53	386,61 (306,85 472,32)	P>0,05
Больные БА без секреции мокроты	39	405,52 (289,62 517,82)	

Примечание: знаком* отмечены статистически значимые различия; для определения уровня значимости использован критерий Манна-Уитни для независимых выборок (непараметрическая статистика).

Мы не наблюдали достоверных отличий уровня A12 у больных с наличием и без наличия мокроты. При сравнении этих групп с ПЗЛ, наблюдались более

низкие значения уровня плазматического А12 у ПЗЛ ($p=0,001$, критерий Манна-Уитни).

Рассмотрим корреляционные связи А12 с показателями ФВД и КОС (таблица 3.1.6), и с некоторыми лабораторными показателями (таблица 3.1.7).

Таблица 3.1.6 - Корреляционные связи уровней апелина12 (пг/мл) в плазме крови с показателями исследований ФВД и КОС у пациентов БА в различных группах

Показатель	АБА легкой степени тяжести	АБА средней степени тяжести	НАБА легкой степени тяжести	НАБА средней степени тяжести	АБА+НАБА
1	2	3	4	5	6
ООЛ_0_фак	-0,445 n=11 p>0,05	-0,170 n=33 p>0,05	0,214 n=8 p>0,05	-0,262 n=25 p>0,05	-0,240* n=80 p=0,032
ЖЕЛ_0_фак	0,692* n=14 p=0,006	-0,116 n=37 p>0,05	-0,418 n=10 p>0,05	0,245 n=28 p>0,05	0,051 n=92 p>0,05
ЖЕЛ_1_фак	0,675* n=14 p=0,008	-0,107 n=37 p>0,05	-0,467 n=10 p>0,05	0,251 n=28 p>0,05	0,051 n=92 p>0,05
ФЖЕЛ_0_фак	0,666* n=14 p=0,009	-0,050 n=37 p>0,05	-0,418 n=10 p>0,05	0,244 n=28 p>0,05	0,073 n=92 p>0,05
ФЖЕЛ_1_фак	-0,604* n=14 p=0,022	-0,102 n=37 p>0,05	-0,418 n=10 p>0,05	0,270 n=28 p>0,05	-0,060 n=92 p>0,05
pH_0	-0,756* n=11 p=0,007	-0,257 n=34 p=0,054	-0,101 n=8 p>0,05	0,027 n=26 p>0,05	-0,251* n=82 p=0,023

Продолжение таблицы 3.1.6

1	2	3	4	5	6
pH_1	-0,446 n =10 p>0,05	-0,153 n =29 p>0,05	-0,019 n =7 p>0,05	-0,038 n =24 p>0,05	-0,294* n =73 p=0,003 ^г
МОС75_1_относ	-0,029 n =14 p>0,05	0,042 n =37 p>0,05	0,055 n =10 p>0,05	0,126 n =28 p>0,05	0,210* n =92 p=0,044 ^г

Примечание: Знаком* обозначены статистически значимые корреляции; для выборок указаны значения коэффициента корреляция Спирмена (непараметрическая статистика). Знаком^г – обозначены значения коэффициента корреляции Пирсона (параметрическая статистика), нормальность распределения для этих выборок проверена тестом Колмогорова-Смирнова. 0 – проба до ингаляции β2-адреномиметика; 1- проба после ингаляции β2-адреномиметика.

Значимые корреляции выявлялись в основном в группе АБА легкого течения: положительная корреляция наблюдалась с ЖЕЛ и ФЖЕЛ, при этом с индексом Тиффно отмечалась обратная корреляция.

В группе же АБА средней степени тяжести корреляция с индексом Тиффно не была достоверна, однако имела положительную направленность. Почти во всех группах мы видим отрицательную связь с ООЛ, достигающую уровня достоверности в группе больных БА с различными вариантами. Однако в группе НАБА легкой степени тяжести мы отмечаем изменения связи на положительную.

Значение индекса Тиффно в группе НАБА легкого течения также имеет отрицательную корреляционную связь с уровнем А12 в плазме крови, тогда как в других группах (за исключением АБА легкого течения) связь положительная.

Отмечались также обратные корреляционные связи уровня А12 с величиной рН крови. Если вспомнить, что у больных БА может наблюдаться сдвиг рН в щелочную сторону (респираторный ацидоз), то возможность его развития (тяжесть обструктивных изменений) связана со снижением уровня А12.

При делении больных БА по величине ИМТ ($\text{кг}/\text{м}^2$) достоверных корреляционных связей уровня А12 и показателей ФВД и КОС обнаружено не было.

Характер корреляционных связей, достигавших уровня достоверности, в группах больных с секрецией мокроты и без секреции мокроты соответствовал связям, представленным в таблице 3.1.6, т.е. наблюдались отрицательные корреляции со значением ООЛ и рН крови.

Таблица 3.1.7 - Корреляционные связи уровней апелина-12 ($\text{пг}/\text{мл}$) в плазме крови с некоторыми лабораторными показателями у больных БА в различных группах

Показатель	Больные БА без секреции мокроты	Больные БА с секрецией мокроты	АБА	НАБА	АБА+ НАБА
1	2	3	4	5	6
Эритроциты периферической крови ($10^{12}/\text{л}$)	-0,084 n =35 p>0,05	-0,160 n =57 p>0,05	0,110 n =51 p>0,05	-0,408* n =41 p=0,008	-0,136 n =92 p>0,05
Цветовой показатель	0,177 n =35 p>0,05	-0,007 n =57 p>0,05	-0,279* n =51 p=0,048	0,336* n =41 p=0,032	0,053 n =92 p>0,05
Средний. объем эритроцита (fl)	0,062 n =35 p>0,05	0,030 n =57 p>0,05	-0,341* n =51 p=0,014	0,366* n =41 p=0,019	-0,038 n =92 p>0,05
Среднее содержание гемоглобина в эритроците (г/л)	0,195 n =35 p>0,05	0,018 n =57 p>0,05	-0,283* n =51 p=0,044	0,337* n =41 p=0,031	0,053 n =92 p>0,05
Лейкоциты периферической крови ($10^9/\text{л}$)	-0,275 n =35 p>0,05	-0,247 n =57 p=0,064	-0,306* n =51 p=0,029	-0,150 n =41 p>0,05	-0,243* n =92 p=0,019

Продолжение таблицы 3.1.7

1	2	3	4	5	6
Палочкоядерные нейтрофилы периферической крови (%)	-0,666* n =13 p=0,013	-0,360 n =27 p=0,065	-0,380 n =22 p>0,05	-0,506* n =18 p=0,032	-0,473* n =40 p=0,002
Лимфоциты периферической крови (%)	0,571* n =13 p=0,041	0,094 n =34 p>0,05	0,386* n =27 p=0,047	0,020 n =20 p>0,05	0,231 n =47 p>0,05
Протромбиновое время (сек)	-0,183 n =34 p>0,05	-0,133 n =47 p>0,05	0,047 n =43 p>0,05	-0,367* n =38 p=0,023	-0,142 n =81 p>0,05
АПТВ (сек)	0,401* n =32 p=0,023	0,088 n =43 p>0,05	0,253 n =42 p>0,05	0,291 n =33 p>0,05	0,259* n =75 p=0,025
Билирубин прямой (мкмоль/л)	-0,217 n =35 p>0,05	-0,147 n =56 p>0,05	-0,306* n =51 p=0,029	0,098 n =40 p>0,05	-0,168 n =91 p>0,05
Относительное кол- во бокаловидного эпителия в мокроте (%)	-	0,335* n =50 p=0,017	0,592* n =23 p=0,003	0,123 n =27 p>0,05	0,335* n =50 p=0,017
Относительное кол- во эозинофилов в мокроте (%)	-	-0,284* n =50 p=0,046	-0,468* n =23 p=0,024	-0,081 n =27 p>0,05	-0,284* n =50 p=0,046

Примечание: знаком* обозначены статистически значимые корреляции; для выборок указаны значения коэффициента корреляция Спирмена (непараметрическая статистика).

Мы наблюдали отрицательные корреляционные связи между уровнями A12 и лейкоцитами периферической крови.

При анализе корреляционных связей с показателями лейкоцитарной формулы выявляется: прямая корреляция уровня A12 с количеством лимфоцитов периферической крови, обратная - с количеством палочкоядерных нейтрофилов.

Имеются корреляционные связи с показателями красной крови: уровень A12 в плазме крови отрицательно коррелирует со значениями цветового показателя, объема эритроцита и средней концентрацией гемоглобина в эритроците в группе АБА, в группе НАБА наблюдается положительная корреляция с этими показателями. Также в группе НАНА наблюдается отрицательная корреляционная связь с количеством эритроцитов в периферической крови.

Наблюдаются взаимосвязи с показателями системы гомеостаза: уровень A12 положительно коррелировал с активированным парциальным тромбопластиновым временем (АПТВ) при анализе всех больных БА и отрицательно коррелировал с протромбиновым временем в группе НАБА. Иными словами, повышение уровня A12 связано со снижением свертываемости по внутреннему пути и повышением свертываемости по внешнему пути свертываемости крови.

При анализе корреляционных связей A12 с показателями цитологического исследования мокроты (таблица 3.1.7) выявлены положительные корреляции с количеством клеток бокаловидного эпителия в мокроте, число которых возрастает с усилением воспалительного процесса и при нарушениях в мукоцилиарной системе. Наблюдается обратная корреляция уровня A12 в плазме крови с количеством эозинофилов в мокроте в различных группах. Корреляционные связи уровня A12 с другими клетками воспаления в мокроте не достигали уровня достоверности.

При анализе наследственной предрасположенности к аллергическим заболеваниям и уровня A12 в плазме крови у больных БА наблюдается

положительная корреляционная связь в группе АБА, достигающая уровня достоверности при средней степени тяжести ($p=0,384$ $n=37$ $p=0,019$).

В группе НАБА средней степени тяжести наблюдалась положительная корреляционная связь уровня плазматического А12 с фазой аллергического ринита, т.е. с обострением аллергического ринита или его персистирующей формой ($p=0,642$ $n=16$ $p=0,007$).

Среди обследованных нами пациентов у пятерых было выполнено эхографическое исследование сердца (совместно с д.м.н. Лалаевой Т.М.). У этих больных не было анамнестических данных о патологии сердечно-сосудистой системы. У трех больных наблюдалась избыточная масса тела ($25 < \text{ИМТ}(\text{кг}/\text{м}^2) < 30$), у оставшихся двух больных ИМТ ($\text{кг}/\text{м}^2$) не был повышен. При анализе корреляционных связей уровня А12 в плазме крови и показателей эхографии наблюдались положительные корреляции с фракцией укорочения ($p=0,975$ $n=5$ $p=0,005$) и фракцией выброса по Teicholtz ($p=0,949$ $n=5$ $p=0,014$).

Наши результаты согласуются с данными литературы, когда наблюдались положительные корреляции уровня А12 в плазме крови и фракциями выброса левого и правого желудочков у больных ХСН [33]. Данная корреляция может отражать известное положительное инотропное действие апелина на миокард.

В следующей таблице 3.1.8 представлен анализ уровня А12 плазмы крови в фазе затихающего обострения, после прохождения больным БА курса терапии.

Таблица 3.1.8 - Уровни апелина-12 в плазме крови (пг/мл) в фазе обострения и в фазе затихающего обострения БА

Группа обследования	n	Медиана, процентили (25 75)	Достоверность различий
1	2	3	4
Вся БА, фаза обострения	20	327,86 (306,46 382,98)	$p > 0,05$
Вся БА, фаза затихающего обострения	20	314,99 (283,46 367,66)	

Продолжение таблицы 3.1.8

1	2	3	4
АБА, фаза обострения	10	316,27 (285,84 412,75)	p>0,05
АБА, фаза затихающего обострения	10	312,13 (278,41 388,76)	
НАБА, фаза обострения	10	339,82 (289,31 375,72)	p>0,05
НАБА, фаза затихающего обострения	10	318,13 (283,49 368,15)	
Больные БА с секрецией мокроты, фаза обострения	14	316,27 (223,36 346,63)	P=0,064
Больные БА с секрецией мокроты, фаза затихающего обострения	14	314,99 (292,04 367,66)	
Больные БА без секреции мокроты, фаза обострения	6	388,80 (307,68 538,17)	P=0,028*
Больные БА без секреции мокроты, фаза затихающего обострения	6	296,17 (267,56 360,93)	

Примечание: знаком* отмечены статистически значимые различия; для определения уровня значимости использован критерий Уилкоксона для зависимых выборок (непараметрическая статистика).

Мы наблюдаем тенденцию к снижению уровня А12 в плазме крови после лечения, в фазе затихающего обострения. Эта тенденция перекликается с данными таблицы 3.1.1, где видно, что уровень А12 в плазме крови в фазе ремиссии несколько ниже, чем при обострении, однако выше, чем у ПЗЛ.

Тенденция к снижению уровня А12 в плазме крови после лечения более выражена в группе больных БА с секрецией мокроты, а у больных БА без секреции мокроты достигает уровня достоверности.

В таблице 3.1.9 представлены корреляционные связи уровня А12 в плазме крови у больных БА в фазе затихающего обострения и объемом проводимой терапии в условиях стационара.

Таблица 3.1.9 - Корреляционные связи уровней апеллина-12 (пг/мл) в фазе затихающего обострения в плазме крови с объемом полученной терапии

Показатель	АБА	НАБА	АБА+ НАБА
Суточная доза ИКС относительно эквивалентная будесониду, получаемая пациентом в период госпитализации (мкг)	-0,646* n =12 p=0,023	0,267 n =10 p>0,05	-0,156 n =22 p>0,05
Доза парентеральных ГКС за время госпитализации в пересчете на преднизолон (мг)	-0,600 n =6 p>0,05	-0,180 n =7 p>0,05	-0,297 n =13 p>0,05
Применение антибактериальной терапии	-0,145 n =12 p>0,05	0,260 n =9 p>0,05	0,016 n =12 p>0,05

Примечание: знаком* обозначены статистически значимые корреляции; для выборок указаны значения коэффициента корреляция Спирмена (непараметрическая статистика).

Как видно из таблицы 3.1.9, уровень А12 в плазме крови в фазе затихающего обострения отрицательно коррелировал с дозой ИКС. Также имеется обратная корреляция уровня А12 в фазе затихающего обострения с курсовой дозой внутривенных ГКС, хотя корреляция и не достигает уровня достоверности.

Таким образом, полученные данные указывают на возможность участия ГКС в регуляции секреции А12.

Мы проводили исследование уровня цитокинов в фазе обострения и в фазе затихающего обострения (таблица 3.1.11). Корреляционные связи А12 и

цитокинов в плазме крови в фазе затихающего обострения БА представлены в таблице 3.1.10.

Таблица 3.1.10 - Корреляционные связи уровней апелина-12 (пг/мл) в плазме крови с уровнями различных цитокинов в фазе затихающего обострения

Показатель	АБА	НАБА	АБА+НАБА
TNF α (пг/мл)	-0,036; n =11 p>0,05	-0,486; n =6 p>0,05	-0,194; n =17 p>0,05
IL-10 (пг/мл)	0,627*; n =11 p=0,039	0,771; n =6 p=0,072	0,663*; n =17 p=0,004
IL-4 (пг/мл)	-0,191; n =11 p>0,05	-0,348*; n =6 p=0,041	-0,160; n =17 p>0,05
Лептин (нг/мл)	-0,600; n =4 p>0,05	-	-0,357; n =7 p>0,05
Адипонектин (мкг/мл)	-0,600; n =4 p>0,05	0,500; n =3 p>0,05	-0,071; n =7 p>0,05
Резистин (нг/мл)	-0,600; n =4 p>0,05	-	0,786*; n =7 p=0,036

Примечание: знаком* обозначены статистически значимые корреляции; для выборок указаны значения коэффициента корреляция Спирмена (непараметрическая статистика).

Мы наблюдали положительную корреляцию уровня А12 и IL-10 в фазе затихающего обострения. При этом IL-10 увеличивался в фазу затихающего обострения. Ранее (таблица 3.1.3) мы наблюдали обратную корреляцию уровней А12 и IL-10 в фазе обострения.

Также меняется характер корреляционной связи уровней А12 и TNF α , хотя уровень достоверности корреляции был достигнут только в фазе обострения (таблица 3.1.4).

Таблица 3.1.11 - Уровни цитокинов в плазме крови в зависимости от фазы БА

Группа обследования: все больные БА	n	Медиана и процентиля (25 75)	Достоверность различий
IL-10 (пг/мл), фаза обострения	15	4,50 (3,00 6,22)	P=0,047*
IL-10 (пг/мл), фаза затихающей ремиссии	15	6,33 (4,50 7,33)	
TNF-α (пг/мл), фаза обострения	15	8,52 (4,58 14,58)	p>0,05
TNF-α (пг/мл), фаза затихающего обострения	15	8,80 (4,48 16,27)	
IL-4 (пг/мл), фаза обострения	14	3,50 (2,75 4,07)	p>0,05
IL-4 (пг/мл), фаза затихающего обострения	14	3,92 (2,86 4,46)	
Резистин (нг/мл), фаза обострения	11	6,96 (6,42 9,36)	P=0,05
Резистин (нг/мл), фаза затихающего обострения	10	4,29 (3,90 6,36)	

Примечание: знаком* отмечены статистически значимые различия; для определения уровня значимости использован критерий Уилкоксона для зависимых выборок (непараметрическая статистика).

Изменение направления корреляционной связи наблюдалось и при анализе взаимосвязи уровней резистина и A12. При этом отмечалось достоверное снижение уровня резистина в группе АБА на фоне лечения (p=0,012 при использовании критерия Уилкоксона для независимых выборок).

Следует отметить, что в фазе обострения БА наблюдался положительный характер связи уровней IL-10 и резистина с уровнем A12 в группе ПЗЛ (таблица 3.1.3).

Мы видим сохранение отрицательной корреляции уровней A12 и IL-4 в группе НАБА в фазе затихающего обострения, характер корреляционной связи у

больных АБА изменялся в фазе затихающего обострения, но эта связь не была достоверна. Мы не наблюдали изменения уровня IL-4 в фазе обострения и в фазе затихающего обострения..

Суммируя полученные данные, отметим, что нами выявлен повышенный уровень A12 в плазме крови у больных БА, как при АБА, так и при НАБА по сравнению с группой ПЗЛ. При этом в фазе ремиссии и затихающего обострения уровень A12 снижался.

Анализ рассмотренных выше корреляционных связей плазматического A12 позволяет сделать предположение об его возможной протективной роли в патогенезе БА.

3.2 Характеристика уровня апелина-36 в плазме крови

Результаты оценки уровней апелина-36 в зависимости от клинко-патогенетических групп и фазы БА представлены в таблице 3.2.1, в зависимости от степени тяжести течения в группе больных НАБА - в таблице 3.2.2.

В группе АБА пациентов с тяжелой степенью течения нет, разница между легкой и средней степенями тяжести была незначима, эти данные в таблице не представлены.

При анализе уровня плазматического A36 при различных вариантах БА из анализа был исключен пациент в фазе ремиссии.

Таблица 3.2.1 Уровни апелина-36 в плазме крови (пг/мл) при различных клинко-патогенетических вариантах и фазах заболевания в сравнении с ПЗЛ

Группа обследования	n	Медиана и проценти (25 75)	Достоверность различий в сравнении с ПЗЛ
1	2	3	4
АБА	20	140,90 (125,56 217,21)	$P^1 > 0,05$
НАБА	18	137,82 (126,35 211,66)	$P^1 = 0,042^*$

Продолжение таблицы 3.2.1

1	2	3	4
Больные БА в фазе обострения	38	137,82 (125,67 211,66)	$P^2=0,077$
Больные БА в фазе ремиссии	1	239,645	
ПЗЛ	12	177,14 (138,31 721,62)	

Примечание: знаком* отмечены статистически значимые различия. Для определения уровня значимости P^1 использован критерий Манна-Уитни для независимых выборок (непараметрическая статистика). Для определения уровня значимости P^2 использован критерий Краскала-Уолиса (непараметрическая статистика).

Таблица 3.2.2 Уровни апелина-36 (пг/мл) в зависимости от степени тяжести БА

Группа обследования	N	Медиана и процентиля (25 75)	Достоверность различий
НАБА легкой степени тяжести (1)	4	137,82 (124,47 191,56)	$P_{1-2}>0,05$ $P_{1-3}>0,05$ $P_{2-3}=0,028^*$
НАБА средней степени тяжести (2)	12	143,12 (132,27 234,40)	
НАБА тяжелой степени тяжести (3)	2	116,75 (112,33 121,17)	

Примечание: знаком* отмечены статистически значимые различия; для определения уровня значимости использован критерий Манна-Уитни для независимых выборок (непараметрическая статистика).

Мы наблюдаем снижение уровня АЗ6 у больных НАБА в сравнении с ПЗЛ, в группе АБА это снижение сохраняется, но не достигает уровня достоверности.

В связи с отсутствием достаточного количества наблюдений в группе больных БА в фазе ремиссии, проведение статистического анализе затруднено, однако видно, что значение уровня АЗ6 в плазме крови у пациента в период ремиссии выше, чем значение 75-ой процентиля в группе обострения.

При анализе больных НАБА по степеням тяжести видно, что наиболее значимое снижение уровня АЗ6 наблюдается у пациентов с тяжелым течением БА, в сравнении с группой НАБА средней степени тяжести.

В таблице 3.2.3 представлены уровни плазматического АЗ6 в при различных клинико-патогенетических вариантах в зависимости от ИМТ ($\text{кг}/\text{м}^2$) и пола.

Таблица 3.2.3 - Уровни апелина-36 в плазме крови ($\text{пг}/\text{мл}$) в зависимости от пола и ИМТ ($\text{кг}/\text{м}^2$)

Группа обследования	n	Медиана и процентиля (25 75)	Достоверность различий
ПЗЛ женщины	8	177,14 (142,01 284,43)	$p > 0,05$
ПЗЛ мужчины	4	500,3 (127,72 886,71)	
ПЗЛ с ИМТ($\text{кг}/\text{м}^2$) < 25	5	141,27 (130,9 503,75)	$P > 0,05$
ПЗЛ с ИМТ($\text{кг}/\text{м}^2$) ≥ 25	7	247,78 (146,94 889,65)	
АБА женщины	11	132,89 (116,87 162,47)	$p > 0,05$
АБА мужчины	9	154,34 (126,35 293,53)	
АБА с ИМТ($\text{кг}/\text{м}^2$) < 25	11	154,34 (116,87 233,73)	$p > 0,05$
АБА с ИМТ($\text{кг}/\text{м}^2$) ≥ 25	9	133,87 (126,35 231,96)	
НАБА женщины	13	143,49 (129,43 239,15)	$p > 0,05$
НАБА мужчины	6	133,87 (118,96 161,36)	
НАБА с ИМТ($\text{кг}/\text{м}^2$) < 25	5	141,27 (122,84 412,70)	$p > 0,05$
НАБА с ИМТ($\text{кг}/\text{м}^2$) ≥ 25	14	138,56 (130,67 225,89)	

Примечание: знаком* отмечены статистически значимые различия; для определения уровня значимости использован критерий Манна-Уитни для независимых выборок (непараметрическая статистика).

Так же, как и при анализе A12 (таблица 3.1.2), мы не обнаружили достоверных различий между уровнями A36 у больных БА и у ПЗЛ с нормальной и избыточной массой тела. Различий по уровню A36 между мужчинами и женщинами не наблюдаются.

Рассмотрим корреляционные связи уровня A36 с исследованными нами цитокинами (таблица 3.2.4 и таблица 3.2.5).

Таблица 3.2.4 - Корреляционные связи уровней апелина-36 (пг/мл) в плазме крови с уровнями различных цитокинов

Показатель	ПЗЛ	АБА	НАБА	АБА+НАБА
TNF- α (пг/мл)	0,056; n =12 p>0,05	0,345; n =19 p>0,05	-0,353; n =19 p>0,05	0,05; n =38 p>0,05
IL-10 (пг/мл)	0,168; n =12 p>0,05	-0,322; n =20 p>0,05	-0,188; n =19 p>0,05	-0,245; n =39 p>0,05
IL-4 (пг/мл)	0,173; n =11 p>0,05	0,282; n =19 p>0,05	0,413; n =18 p=0,088	0,336*; n =37 p=0,042

Примечание: знаком* обозначены статистически значимые корреляции; для выборок указаны значения коэффициента корреляция Спирмана (непараметрическая статистика).

Таблица 3.2.5 - Корреляционные связи уровней апелина-36 (пг/мл) с уровнями различных цитокинов в плазме крови в зависимости от тяжести течения БА

Показатель	АБА		НАБА	
	легкой степени тяжести	средней степени тяжести	легкой степени тяжести	средней степени тяжести
1	2	3	4	5
TNF- α (пг/мл)	0,393; n =7 p>0,05	0,406; n =12 p>0,05	-0,800; n =4 p>0,05	-0,369; n =13 p>0,05

Продолжение таблицы 3.2.5

1	2	3	4	5
IL-10 (пг/мл)	-0,108; n =8 p>0,05	-0,277; n =12 p>0,05	0,200; n =4 p>0,05	-0,325; n =13 p>0,05
IL-4 (пг/мл)	0,750; n =77 p=0,052	-0,063; n =12 p>0,05	0,500; n =3 p>0,05	0,611*; n =13 p=0,027

Примечание: знаком* обозначены статистически значимые корреляции; для выборок указаны значения коэффициента корреляция Спирмана (непараметрическая статистика).

Корреляционная связь IL-10 с АЗ6 носит обратный характер, такой же характер мы наблюдали ранее при анализе А12. Корреляционная связь АЗ6 и TNF-α была слабой и не достигала уровня достоверности.

Корреляционная связь АЗ6 с интерлейкином-4 положительная и сохраняет свой знак вне зависимости от варианта БА. Иными словами, в отличие от А12, мы не наблюдаем изменения характера связи в зависимости от клинико-патогенетического варианта.

Достоверных корреляционных связей уровня TNF-α и АЗ6 мы не наблюдали, однако характер связи был положительным в группе АБА и отрицательным в группе НАБА.

Рассмотрим уровни АЗ6 у больных БА с наличием и без наличия мокроты. Больным с секрецией мокроты, помимо цитологического исследования мокроты, выполнялся также посев мокроты, что позволило нам выделить группу с положительным бактериологическим посевом мокроты (бактериальным компонентом) и отрицательным бактериологическим посевом мокроты среди больных БА с секрецией мокроты (таблица 3.2.6)

Таблица 3.2.6 Уровни апелина-36 (пг/мл) в плазме крови в зависимости от выраженности бронхитического и бактериального компонентов

Группа обследования	n	Медиана и процентиля (25 75)	Достоверность различий	
Больные БА с секрецией мокроты (1)	24	133,13 (122,19 145,89)	P ¹ =0,004* , в сравнении с ПЗЛ (таблица 3.2.1) P ₁₋₂ =0,004*	
Больные БА без секреции мокроты (2)	14	221,03 (133,75 287,13)	P ¹ >0,05, в сравнении с ПЗЛ (таблица 3.2.1)	P ² =0,014*
Больные БА с секрецией мокроты и положительным результатом посева мокроты	15	126,97 (121,17 142,75)		
Больные БА с секрецией мокроты и отрицательным результатом посева мокроты	8	142,38 (129,56 147,62)		

Примечание: знаком* отмечены статистически значимые различия. Для определения уровня значимости P¹ и P₁₋₂ использован критерий Манна-Уитни для независимых выборок (непараметрическая статистика). Для определения уровня значимости P² использован критерий Краскала-Уолиса (непараметрическая статистика).

Как видно из таблицы 3.2.6 снижение А36 зависит от выраженности бронхитического и бактериального компонентов. У больных с секрецией мокроты уровень А36 достоверно ниже в сравнении с больными БА без секреции мокроты

в фазе обострения. Причем при сравнении этих групп больных с ПЗЛ по уровню АЗб только в группе больных с секрецией мокроты отмечались достоверные различия. Это позволяет нам предположить вовлечение АЗб в механизмы секреции бронхиальной слизи при БА.

Причем, при наличии инфекционного компонента снижение АЗб более выражено. Эти данные согласуются с полученными нами ранее (таблица 3.2.1), где наибольшее снижение АЗб по сравнению с контрольной группой наблюдалось именно у НАБА.

При анализе корреляционных связей уровня АЗб с показателями ФВД (таблица 3.2.7), также важным оказалось разделение больных БА по наличию мокроты и результату бактериологического посева мокроты для получения достоверных корреляционных связей.

Таблица 3.2.7 - Корреляционные связи уровней апелина-36 (пг/мл) в плазме крови с показателями исследования ФВД и КОС у пациентов БА в различных группах

Показатель	Больные БА без секреции мокроты			Больные БА с секрецией мокроты	
	АБА+ НАБА	НАБА	АБА	С положи- тельным посевом мокроты	С отрица- тельным посевом мокроты
1	2	3	4	5	6
ЖЕЛ_1_фак	0,524* n=15 p=0,045 ^r	0,319 n=6 p>0,05	0,717* n=9 p=0,030	-0,572* n=15 p=0,026	0,119 n=8 p>0,05
ФЖЕЛ_1_фак	0,562* n=15 p=0,029 ^r	0,200 n=6 p>0,05	0,617 n=9 p=0,077	-0,315 n=15 p>0,05	0,119 n=8 p>0,05

Продолжение таблицы 3.2.7

1	2	3	4	5	6
ОФВ1_1_фак	0,545* n=15 p=0,036 ^r	0,200 n=6 p>0,05	0,483 n=9 p>0,05	-0,281 n=15 p>0,05	0,439 n=8 p>0,05
ПОСВЫД_1_фак	0,554* n=15 p=0,032 ^r	0,086 n=6 p>0,05	0,500 n=9 p>0,05	-0,258 n=15 p>0,05	0,310 n=8 p>0,05
МОС50ВД_0_фак	0,424 n=14 p>0,05	-0,086 n=6 p>0,05	0,595 n=8 p>0,05	-0,550* n=14 p=0,042	-0,095 n=8 p>0,05
МОС50ВД_1_фак	0,552* n=14 p=0,041	-0,086 n=6 p>0,05	0,833* n=8 p=0,010	-0,361 n=14 p>0,05	-0,190 n=8 p>0,05
ПОСВД_1_фак	0,587* n=14 p=0,027	-0,371 n=6 p>0,05	0,762* n=8 p=0,028	-0,339 n=14 p>0,05	-0,333 n=8 p>0,05
SGaw_1_фак	-0,294 n=12 p>0,05	0,949 n=4 p=0,051	-0,738* n=8 p=0,037	-0,239 n=15 p>0,05	0,432 n=7 p>0,05
PaO ₂ _0	-0,385 n=12 p>0,05	-0,800 n=4 p>0,05	-0,429 n=6 p>0,05	-0,543* n=15 p=0,036	0,400 n=5 p>0,05
pH_1	-0,092 n=11 p>0,05	-0,632 n=4 p>0,05	0,092 n=7 p>0,05	-0,537* n=14 p=0,048	-0,821 n=5 p>0,05
Raw_0_фак	0,573 n=12 p=0,051	0,400 n=4 p>0,05	0,762* n=8 p=0,028	0,298 n=15 p>0,05	-0,857* n=7 p=0,014

Продолжение таблицы 3.2.7

1	2	3	4	5	6
Rawд_0_фак	0,329 n=12 p>0,05	0,400 n=4 p>0,05	0,190 n=8 p>0,05	0,345 n=15 p>0,05	-0,857* n=7 p=0,014
ФЖЕЛ_1_относ	0,239 n=15 p>0,05	0,257 n=6 p>0,05	0,433 n=9 p>0,05	-0,574* n=15 p=0,025	0,548 n=8 p>0,05
ОФВ1_0_относ	-0,196 n=15 p>0,05	-0,257 n=6 p>0,05	0,033 n=9 p>0,05	-0,118 n=15 p>0,05	0,762* n=8 p=0,028

Примечание: Знаком* обозначены статистически значимые корреляции; для выборок указаны значения коэффициента корреляция Спирмена (непараметрическая статистика). Знаком^г – обозначены значения коэффициента корреляции Пирсона (параметрическая статистика), нормальность распределения для этих выборок проверена тестом Колмогорова-Смирнова. 0 – проба до ингаляции β2-адреномиметика; 1 - проба после ингаляции β2-адреномиметика.

При анализе корреляционных связей больных БА при делении по клинко-патогенетическим вариантам наблюдалась только одна корреляционная связь: с PO_2 ($r=-0,355$; $n=34$, $p=0,039$).

Итак, в таблице 3.2.7 мы наблюдаем положительные корреляционные связи уровня $A36$ в плазме крови со статическими объемными и скоростными показателями спирометрии ФВД, однако со скоростным показателем плетизмографии наблюдается отрицательная корреляция, а с показателем сопротивления бронхов (Raw) – положительная.

В группе больных БА с секрецией мокроты и отрицательным посевом мокроты наблюдается отрицательная корреляционная связь уровня $A36$ с показателем бронхиального сопротивления и положительная со скоростным показателем спирометрии. При этом в группе больных БА с положительным

посевом мокроты картина обратная: отрицательная корреляционная связь уровня АЗ6 плазмы крови со статическими объемами и скоростными показателями спирометрии. Как и при анализе корреляционных связей А12 (таблица 3.1.5), мы видим отрицательную корреляционную связь уровня АЗ6 с рН крови и парциальным давлением кислорода.

Для анализа корреляционных связей уровня АЗ6 в плазме крови с лабораторными показателями (таблица 3.2.8), больные БА были разделены по клинико-патогенетическому варианту и степени тяжести течения заболевания. При анализе всех больных АБА достоверных корреляционных связей не было.

Таблица 3.2.8 - Корреляционные связи уровня аспертина-36 (пг/мл) в плазме крови с некоторыми лабораторными показателями у больных БА в различных группах

Показатель	НАБА	АБА легкой степени тяжести	АБА средней степени тяжести	НАБА легкой степени тяжести	НАБА средней степени тяжести
1	2	3	4	5	6
Ср. объем эритроцита (fl)	0,081 n =19 p>0,05	0,690 n =8 p=0,058	0,032 n =12 p>0,05	0,400 n =4 p>0,05	0,135 n =13 p>0,05
Ср. концентрация гемоглобина в эритроците (г/л)	0,210 n =19 p>0,05	-0,347 n =8 p>0,05	-0,028 n =12 p>0,05	0,400 n =4 p>0,05	0,612* n =13 p=0,026
Эозинофилы периферической крови (10 ⁹ /л.)	-0,395 n =19 p>0,05	0,762* n =8 p=0,028	-0,203 n =12 p>0,05	-0,400 n =4 p>0,05	0,070 n =12 p>0,05
Протромбиновый индекс (%)	0,352 n =19 p>0,05	-0,731* n =8 p=0,040	0,194 n =12 p>0,05	0,600 n =4 p>0,05	0,217 n =13 p>0,05

Продолжение таблицы 3.2.8

1	2	3	4	5	6
Протромбиновое время (сек)	-0,294 n =18 p>0,05	0,731* n =8 p=0,040	-0,208 n =10 p>0,05	-0,600 n =4 p>0,05	-0,217 n =13 p>0,05
АЛТ (Ед/л)	-0,149 n =19 p>0,05	0,714* n =8 p=0,047	0,081 n =12 p>0,05	-0,400 n =4 p>0,05	0,045 n =13 p>0,05
Относительное кол-во лимфоцитов в мокроте (%)	0,698* n =13 p=0,008	-	0,091 n =6 p>0,05	-	0,700* n =9 p=0,036

Примечание: знаком* обозначены статистически значимые корреляции; для выборок указаны значения коэффициента корреляция Спирмена (непараметрическая статистика).

При анализе корреляционных связей уровня АЗ6 с лабораторными показателями не было обнаружено связей, достигавших уровня достоверности в группе АБА, при анализе всех больных бронхиальной астмой отмечалась положительная корреляция уровня АЗ6 с количеством лимфоцитов в мокроте. Выделение групп больных БА по выраженности бронхитического компонента также не дало дополнительных достоверных корреляционных связей.

В таблице 3.2.8 представлены корреляционные связи АЗ6 с некоторыми лабораторными показателями, преимущественно по степеням тяжести у больных АБА и НАБА. Наблюдается положительная корреляционная связь уровня АЗ6 в плазме крови с количеством лимфоцитов в мокроте в группе НАБА, ранее же мы наблюдали такую же тенденцию при характеристике А12, но эта связь не достигала уровня достоверности.

Наблюдается положительная корреляционная связь уровня АЗ6 и уровня эозинофилов периферической крови в группе больных АБА легкой степени тяжести.

Корреляционная связь протромбинового индекса с уровнем АЗб имеет отрицательный характер, а протромбинового времени – положительный, т.е. уменьшение свертываемости крови связано с увеличением уровня АЗб в плазме крови. Ранее нами наблюдалась противоположная картина при анализе корреляционных связей уровня А12 с показателями внешнего пути свертываемости крови.

Не обнаружено корреляционных связей, достигающих уровня достоверности, между уровнем АЗб в плазме крови и такими анамнестическими данными, как наследственная предрасположенность к аллергологическим заболеваниям, курение, возраст больного к началу БА.

Рассмотрим уровни АЗб в фазе затихающего обострения БА, после проведенного лечения (таблица 3.2.9)

Таблица 3.2.9 - Уровни апелина-36 в плазме крови (пг/мл) в фазе обострения и в фазе затихающего обострения у больных БА

Группа обследования	n	Медиана и проценти (25 75)	Р-значение
Вся БА, фаза обострения	14	127,71 (121,35 168,45)	p>0,05
Вся БА, фаза затихающего обострения	14	131,28 (128,14 163,76)	
АБА, фаза обострения	7	128,45 (121,41 233,73)	p>0,05
АБА, фаза затихающего обострения	7	129,19 (127,96 212,03)	
НАБА, фаза обострения	7	126,97 (121,17 146,69)	p>0,05
НАБА, фаза затихающего обострения	7	133,13 (130,18 147,68)	

Примечание: для определения уровня значимости использован критерий Уилкоксона для зависимых выборок (непараметрическая статистика).

Достоверных различий в таблице 3.2.9 не получено, однако можно отметить тенденцию к увеличению уровня АЗ6 на фоне проводимой терапии.

Такая тенденция сохранялась и в группах больных БА в зависимости от наличия мокроты, но достоверности тоже не достигала.

В таблице 3.2.10 представлены корреляционные связи уровня АЗ6 у больных БА в фазе затихающего обострения и объемом проводимой им терапии.

Таблица 3.2.10 - Корреляционные связи уровней апелина-36 (пг/мл) в плазме крови в фазе затихающего обострения с объемом полученной терапии

Показатель	АБА	НАБА	АБА+ НАБА
Суточная доза ИКС относительно эквивалентная будесониду, получаемая пациентом в период госпитализации (мкг)	0,134 n =9 p>0,05	0,676 n =7 p>0,05	0,338 n =16 p>0,05
Доза парентеральных ГКС за время госпитализации, в пересчете на преднизолон (мг)	-0,543 n =6 p>0,05	0,429 n =6 p>0,05	-0,119 n =12 p>0,05
Применение антибактериальной терапии	-0,640* n =10 p=0,046	-0,207 n =6 p>0,05	-0,476 n =16 p=0,062

Примечание: знаком* обозначены статистически значимые корреляции; для выборок указаны значения коэффициента корреляция Спирмена (непараметрическая статистика).

Имеется отрицательная корреляционная связь уровня АЗ6 с фактом назначения антибактериальной терапии, т.е. получение антибиотикотерапии связано с более низкими уровнями АЗ6 в фазе затихающего обострения. Эти данные согласуются с полученными ранее о важности наличия бронхитического и бактериального компонентов при оценки уровня АЗ6 (таблицы 3.2.6).

Корреляционных связей, достигших уровня достоверности, между уровнем АЗ6 и объемом глюкокортикостероидной терапии нами не выявлено.

В фазе затихающего обострения исследовался уровень, представленных в таблице 3.2.11, цитокинов.

Таблица 3.2.11 - Корреляционные связи уровня апелина-36 (пг/мл) с уровнями различных цитокинов в плазме крови у больных БА в фазе затихающего обострения

Показатель	АБА	НАБА	АБА+НАБА
TNF- α (пг/мл)	-0,382; n =10 p>0,05	-0,036; n =7 p>0,05	-0,248; n =17 p>0,05
IL-10 (пг/мл)	-0,527; n =10 p>0,05	-0,571; n =7 p>0,05	-0,540*; n =17 p=0,025
IL-4 (пг/мл)	0,018; n =10 p>0,05	0,63; n =7 p>0,05	0,250; n =17 p>0,05

Примечание: знаком* обозначены статистически значимые корреляции; для выборок указаны значения коэффициента корреляция Спирмена (непараметрическая статистика).

В фазе затихающего обострения отрицательная корреляционная связь уровней IL-10 и АЗ6 достигала достоверности (таблица 3.2.11), ранее (таблица 3.2.4) мы наблюдали схожий характер связи, но без достижения уровня достоверности. Следует заметить, что отмечалось увеличение уровня IL-10 в фазе затихающего обострения (таблица 3.1.11). Корреляционная связь IL-4 и АЗ6 в таблице 3.2.11 не достигает уровня достоверности, однако, связь положительная, как и в фазе обострения. Корреляции уровней АЗ6 и TNF- α не достигают уровня значимости.

Для понимания взаимоотношений А12 и АЗ6 нами был введен индекс А12 (в плазме крови)/АЗ6 (в плазме крови). Анализ данного индекса представлен ниже (таблица 3.2.12).

Таблица 3.2.12 - Значение индекса A12/A36 в плазме крови у больных БА в фазе обострения и в группе практически здоровых лиц

Группа обследования	n	Медиана и процентиля (25 75)	Достоверность различий в сравнении с ПЗЛ	
Все больные БА	38	2,25 (1,4 2,68)	P ₁ =0,012*	
АБА	20	2,34 (1,26 3,07)	P ₁ =0,019*	
НАБА	18	2,14 (1,4 2,6)	P ₁ =0,031*	
Больные БА с секрецией мокроты	24	2,45 (1,76 2,88)	P ₁ =0,002*	P ₂ =0,007*
Больные БА без секреции мокроты	14	1,48 (0,95 2,49)	P ₁ >0,05	
ПЗЛ	12	1,34 (0,33 2,21)		

Примечание: знаком* отмечены статистически значимые различия; P₁ - для определения уровня значимости использован критерий Манна-Уитни для независимых выборок (непараметрическая статистика). P₂ - для определения уровня значимости использован критерий Краскала-Уолиса (непараметрическая статистика).

Из таблицы 3.2.12 видно, что практически во всех группах значение индекса выше у больных БА, чем у ПЗЛ. Однако незначительное повышение индекса наблюдается в группе больных БА без секреции мокроты, а наибольшее - в группе больных БА с секрецией мокроты при анализе этих групп совместно с ПЗЛ. Различия между группами АБА и НАБА, а также в группах по наличию бронхитического компонента не достигали уровня достоверности. Таким образом, можно предположить, что у больных БА соотношение A12 к A36 в плазме крови смещается в сторону A12, однако эти изменения наименее выражены в группе больных БА без секреции мокроты.

Обобщая полученные результаты, следует отметить, что нами выявлено снижение уровня А36 в плазме крови у больных НАБА по сравнению с ПЗЛ, а также повышение индекса А12/А36 у больных различными вариантами БА в сравнении с контрольной группой. При этом наиболее низкий уровень А36 в плазме крови у больных БА с наличием бронхитического и бактериального компонентов, отрицательная корреляционная связь уровня А36 в плазме крови с фактом назначения антибактериальной терапии позволяет предположить возможную связь А36 с неаллергическим воспалением.

3.3 Характеристика уровня АРJ-рецептора лимфоцитов периферической крови

Результаты оценки уровней АРJ-рецептора лимфоцитов периферической крови (АРJ) в различных клиничко-патогенетических группах представлены в таблице 3.3.1.

Таблица 3.3.1 - Уровни АРJ-рецептора лимфоцитов периферической крови (пг/мл) при различных патогенетических вариантах в сравнении с ПЗЛ

Группа обследования	n	Медиана и процентиля (25 75)	Достоверность различий в сравнении с ПЗЛ
ПЗЛ	23	29,36 (16,29 52,63)	
АБА	8	28,02 (17,39 80,59)	p>0,05
НАБА	15	30,82 (17,87 79,87)	p>0,05

Примечание: знаком* отмечены статистически значимые различия; для определения уровня значимости использован критерий Манна-Уитни для независимых выборок (непараметрическая статистика).

Как видно из таблицы 3.3.1, достоверных различий между уровнями АРJ-рецепторов лимфоцитов периферической крови при различных клиничко-

патогенетических вариантах БА и в сравнении с ПЗЛ не обнаружено. При выделении групп больных с легкой и средней степенью тяжести БА достоверных отличий также не наблюдалось.

Мы рассмотрели уровень АРJ-рецептора при различных вариантах БА и в группе ПЗЛ в зависимости от пола и индекса массы тела (таблица 3.3.2).

Таблица 3.3.2 - Уровни АРJ-рецептора лимфоцитов периферической крови (пг/мл) в зависимости от пола и ИМТ

Группа обследования	n	Медиана и процентиля (25 75)	Достоверность различий
ПЗЛ женщины	13	35,76 (20,30 54,87)	p>0,05
ПЗЛ мужчины	10	23,63 (12,55 69,57)	
ПЗЛ с ИМТ(кг/м ²)<25	12	28,12 (15,35 99,86)	p>0,05
ПЗЛ с ИМТ(кг/м ²)≥25	11	29,36 (23,24 50,98)	
АБА женщины	3	25,24 (19,69 30,8)	p>0,05
АБА мужчины	5	51,127 (9,00 125,74)	
АБА с ИМТ(кг/м ²)<25	4	28,02 (7,35 128,51)	p>0,05
АБА с ИМТ(кг/м ²)≥25	4	35,40 (17,38 80,58)	
НАБА женщины	12	29,67 (18,34 102,2)	p>0,05
НАБА мужчины	3	39,04 (11,84 57,66)	
НАБА с ИМТ(кг/м ²)<25	6	21,09 (8,87 35,81)	p>0,05
НАБА с ИМТ(кг/м ²)≥25	9	46,44 (24,34 117,06)	

Примечание: знаком* отмечены статистически значимые различия; для определения уровня значимости использован критерий Манна-Уитни для независимых выборок (непараметрическая статистика).

Из таблицы 3.3.2 видно, что у лиц с избыточной массой тела наблюдается небольшое повышение уровня рецептора, однако уровня достоверности эти изменения не достигают.

Закономерностей в изменении уровня рецептора в группах мужчин и женщин нет.

При анализе группы ПЗЛ различий не найдено.

При рассмотрении возрастных групп ПЗЛ и больных БА до 45 лет и старше 45 лет различий также не найдено.

Среди обследованных пациентов несколько человек были в фазе ремиссии БА. Это позволило нам выделить группы больных БА в фазе обострения и в фазе ремиссии (таблица 3.3.3).

Таблица 3.3.3 - Уровни ARJ-рецептора лимфоцитов периферической крови (пг/мл) в фазе обострения и ремиссии БА, а также в зависимости от наличия базисной ИКС-терапии

Группа обследования	n	Медиана и процентиля (25 75)	Достоверность различий
БА в фазе ремиссии (1)	5	16,62 (5,39 37,76)	$P_{1-2}=0,037^*$ $P_{1-3}=0,058$ $P_{1-4}=0,068$ $P_{3-4}>0,05$
БА в фазе обострения (2)	18	34,93 (21,76 95,21)	
Больные БА в фазе обострения, получающие базисную ИКС-терапию (3)	12	29,67 (19,67 104,83)	
Больные БА в фазе обострения, не получающие базисную ИКС-терапию (4)	6	42,74 (29,41 85,95)	

Примечание: знаком* отмечены статистически значимые различия; для определения уровня значимости использован критерий Манна-Уитни для независимых выборок (непараметрическая статистика).

Из таблицы 3.3.3 видно, что уровень рецептора в группе больных БА в фазе ремиссии меньше, чем в группе больных БА фазе обострения.

В группе больных БА в фазе обострения 6 человек поступили без базисной терапии ИКС. Мы предположили, что наблюдаемые изменения уровня рецептора могут быть связаны с гормональной терапией. Не было достигнуто уровня достоверности различий между пациентами в группе больных БА в фазе обострения без базисного ИКС-терапии и с ней, однако это связано, по-видимому, с небольшим числом наблюдений. Однако, если обратить внимание на медианы, то видно, что наиболее высокие значения уровня рецептора наблюдаются у больных БА в фазе обострения, не получающих базисной ИКС-терапии.

Нами не было получено различий в уровнях ARJ-рецептора в группах больных БА с наличием мокроты и без неё, а также в зависимости от результата бактериологического посева мокроты.

Анализ корреляционных связей уровня ARJ-рецептора лимфоцитов периферической крови с уровнем цитокинов в плазме крови представлен в таблице 3.3.4.

Таблица 3.3.4 - Корреляционные связи уровня ARJ-рецептора (пг/мл) с уровнями различных цитокинов

Показатель	ПЗЛ	АБА	НАБА	АБА+НАБА
TNF- α (пг/мл)	0,33; n =13 p>0,05	-0,667; n =4 p>0,05	0,119; n =8 p>0,05	0,077; n =12 p>0,05
IL-10 (пг/мл)	-0,500; n=13 p=0,082	-0,333; n =4 p>0,05	0,238; n =8 p>0,05	-0,011; n =12 p>0,05
IL-4 (пг/мл)	0,245; n =12 p>0,05	-0,667; n =4 p>0,05	-0,393; n =7 p>0,05	-0,409; n =11 p>0,05

Примечание: для выборок указаны значения коэффициента корреляция Спирмена (непараметрическая статистика).

Достоверных корреляций ARJ-рецептора с уровнями цитокинов при различных клинко-патогенетических вариантах БА обнаружено не было (таблица 3.3.4). Наблюдается тенденция к отрицательной корреляции уровня ARJ

и IL-4 больных БА и отрицательная корреляционная связь с IL-10, наиболее выраженная у ПЗЛ.

При выделении групп легкой и средней степени тяжести БА достоверных корреляционных связей также не обнаружено.

Рассмотрим корреляционные связи уровня АРJ-рецептора с некоторыми функциональными и лабораторными показателями в зависимости от варианта БА и наличия у больных секрета мокроты (таблица 3.3.5 и таблица 3.3.6).

Таблица 3.3.5 - Корреляционные связи уровня рецептора к апелину лимфоцитов периферической крови (пг/мл) с показателями исследования ФВД и некоторыми лабораторными показателями у больных БА в различных группах

Показатель	АБА	АБА в фазе обострения	НАБА	НАБА в фазе обострения
1	2	3	4	5
Протромбиновое время (сек)	-0,143 n =7 p>0,05	-0,400 n =5 p>0,05	-0,615* n =15 p=0,015	-0,662* n =12 p=0,019
Протромбиновый индекс (%)	0,607 n =7 p>0,05	0,400 n =5 p>0,05	0,615* n =15 p=0,015	0,662* n =12 p=0,019
Билирубин общий (мкмоль/л)	0,833* n =8 p=0,010	0,600 n =6 p>0,05	-0,368 n =15 p>0,05	-0,308 n =12 p>0,05
Билирубин прямой (мкмоль/л)	0,714* n =8 p=0,047	0,543 n =6 p>0,05	-0,213 n =15 p>0,05	-0,207 n =12 p>0,05
Билирубин не прямой (мкмоль/л)	0,881* n =8 p=0,004	0,771 n =6 p>0,05	-0,321 n =15 p>0,05	-0,280 n =12 p>0,05

Продолжение таблицы 3.3.5

1	2	3	4	5
Тромбоциты периферической крови ($10^9/\text{л}$)	-0,095 n =8 p>0,05	-0,486 n =6 p>0,05	-0,489 n =15 p>0,05	-0,462 n =12 p>0,05
Средний объем тромбоцита (fl)	0,252 n =8 p>0,05	0,406 n =6 p>0,05	0,547* n =15 p=0,035	0,620* n =12 p=0,032
ПОСвд_0_фак	0,310 n =8 p>0,05	0,886* n =6 p=0,019	-0,325 n =10 p>0,05	-0,140 n =12 p>0,05
ФЖЕЛ_0_фак	0,00 n =8 p>0,05	0,714 n =6 p>0,05	-0,422 n =15 p>0,05	-0,655* n =12 p=0,021
PaO ₂ _1	0,257 n =6 p>0,05	0,400 n =4 p>0,05	0,446 n =15 p>0,05	0,648* n =10 p=0,043

Примечание: знаком* обозначены статистически значимые корреляции; для выборок указаны значения коэффициента корреляция Спирмена (непараметрическая статистика). 0 – проба до ингаляции β_2 -адреномиметика; 1 - проба после ингаляции β_2 -адреномиметика.

Как видно из таблицы 3.3.5, имеются отрицательные корреляционные связи уровня ARJ-рецептора с ФЖЕЛ в группе НАБА в фазе обострения и положительная корреляционная связь с парциальным давлением кислорода после ингаляции β_2 -адреномиметика.

В группе АБА в фазе обострения имеется положительная корреляция значения ПОСвд с уровнем ARJ.

Таблица 3.3.6 - Корреляционные связи уровня ARJ-рецептора лимфоцитов периферической крови с показателями ФВД у больных БА с выделением мокроты и без выделения мокроты

Показатель	Больные БА с секрецией мокроты	Больные БА без секреции мокроты
МОС75выд_0_фак	0,51; n =10; p>0,05	-0,560*; n =13; p=0,046
СОС_0_относ	0,515; n =10; p>0,05	-0,622*; n =12; p=0,031
ПОСвыд_0_относ	0,273; n =10; p>0,05	-0,577*; n =13; p=0,039
ПОСвыд_1_относ	0,345; n =10; p>0,05	-0,560*; n =13; p=0,046
МОС50_0_относ	0,480; n =10; p>0,05	-0,571*; n =13; p=0,041
МОС75_0_относ	0,515; n =10; p>0,05	-0,610*; n =13; p=0,027

Примечание: знаком* обозначены статистически значимые корреляции; для выборок указаны значения коэффициента корреляция Спирмена (непараметрическая статистика). 0 – проба до ингаляции β 2-адреномиметика; 1 - проба после ингаляции β 2-адреномиметика.

В таблице 3.3.6 мы рассмотрели корреляционные связи в группах больных в зависимости от наличия мокроты. У больных без секреции мокроты наблюдались отрицательные корреляционные связи уровня рецептора ARJ лимфоцитов периферической крови и скоростных показателей спирометрии, т.е. у больных БА без секреции мокроты и при НАБА наблюдается связь повышения ARJ (активации) лимфоцитов с ухудшением показателей ФВД. В группе больных с секрецией мокроты корреляционные связи носили положительный характер, хотя и не достигали уровня достоверности.

Нами не было обнаружено связи уровня рецептора с признаками инфекционного процесса. Ранее при рассмотрении результатов корреляционного анализа уровней апелинов мы также часто наблюдали инверсию связи с показателями ФВД при различных вариантах БА.

Отмечается отрицательная корреляция ARJ-рецептора с количеством тромбоцитов периферической крови и положительная корреляционная связь со

средним объемом тромбоцита. Представленные корреляционные связи уровня APJ-рецептора с протромбиновым временем и протромбиновым индексом указывают на связь повышения уровня APJ и повышения свертываемости крови.

Результаты анализа APJ-рецептора лимфоцитов периферической крови в фазе затихающего обострения представлены ниже (таблица 3.3.7 и 3.3.8).

Таблица 3.3.7 - Уровни APJ-рецептора лимфоцитов периферической крови (пг/мл) у всех больных БА в фазе обострения и фазе затихающего обострения

Группа обследования	n	Медиана и проценти (25 75)	Достоверность различий
Фаза обострения	6	25,25 (10,71 62,24)	p>0,05
Фаза затихающего обострения	6	15,76 (1,63 67,38)	

Примечание: для определения уровня значимости использован критерий Уилкоксона для зависимых выборок (непараметрическая статистика).

Таблица 3.3.8 - Корреляционные связи уровней APJ лимфоцитов периферической крови у больных БА в фазе затихающего обострения с объемом полученной терапии

Показатель	Все больные БА
Суточная доза ИКС относительно эквивалентная будесониду, получаемая пациентом в период госпитализации (мкг)	-0,815*; n=7 P=0,025
Доза парентеральных ГКС за время госпитализации в пересчете на преднизолон (мг)	-0,757*; n=7 P=0,049
Получение антибактериальной терапии	-0,207; n=6 P>0,05

Примечание: знаком* обозначены статистически значимые корреляции; для выборок указаны значения коэффициента корреляция Спирмена (непараметрическая статистика).

Достоверных различий между уровнями рецептора АРJ-рецептора лимфоцитов периферической крови в фазе обострения и в фазе затихающего обострения (после терапии) у больных БА не получено (таблица 3.3.7), однако можно отметить тенденцию к снижению АРJ на фоне проводимой терапии.

При анализе влияния ГКС-терапии на уровень АРJ в фазе затихающего обострения (таблица 3.3.8), видно, что имеется отрицательная корреляционная связь уровня АРJ и количества получаемых ГКС (как ИКС, так и внутривенной терапии).

Таким образом, можно предположить, что наблюдаемая ранее тенденция к снижению уровня АРJ в фазе затихающего обострения (таблица 3.3.7), связана с получением повышенных доз ГКС в фазе обострения.

Не обнаружено корреляционных связей уровня АРJ-рецептора с исследуемыми цитокинами в плазме крови у больных БА в фазе затихающего обострения. Однако характер связи (по сравнению с таблицей 3.3.4) сохранялся.

Завершая данную главу, рассмотрим клинические примеры, иллюстрирующие изложенные выше положения.

Пациент А59, 34 лет. Клинический диагноз: бронхиальная астма, аллергическая (бытовая, эпидермальная сенсibilизация), неаллергическая (инфекционно-зависимая), легкой степени тяжести, неконтролируемое течение, фаза обострения.

Считает себя больным с 34 летнего возраста. С детского возраста страдает атопическим дерматитом.

Базисной ИКС-терапии не получает. Сальбутамол - по требованию.

Сопутствующая патология представлена гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью; хроническим бронхитом, вне обострения; хроническим фарингитом, вне обострения.

Стаж курения 5,5 пачко/лет, профессиональных вредностей нет. Наследственную предрасположенность к аллергическим заболеваниям отрицает.

Вес – 82 кг, рост – 181 см. ИМТ=25 кг/м².

Поступил в клинику в связи с ухудшением течения заболевания на фоне заведения домашнего животного.

Выделение мокроты не отмечает.

По проведении обследования изменений исследуемых биохимических показателей крови не отмечается. Небольшая эозинофилия по данным клинического анализа крови. При выполнении кожного аллергического тестирования - положительные скарификационные пробы к бытовым и эпидермальным аллергенам.

По результатам функционального исследования легких: значительные обструктивные нарушения вентиляционной способности легких, прирост ОФВ1 после ингаляции сальбутамола – 26,4%

Нами было проведено специальное обследование с определением уровней апелина-12, апелина-36, IL-4, IL-10 и TNF- α в плазме крови и уровня APJ-рецептора лимфоцитов периферической крови. Концентрация уровня апелина-12 в плазме крови составила – 510,05 пг/мл, апелина-36 – 803,7 пг/мл, IL-4 – 6,5 пг/мл, IL-10 – 2,3 пг/мл, TNF- α – 9,1 пг/мл. Уровень APJ-рецептора лимфоцитов периферической крови составил 51,1 пг/мл в 10^7 клетках.

Пациентка А47, 49 лет. Клинический диагноз: бронхиальная астма неаллергическая (инфекционно-зависимая, нервно-психическая), течение средней степени тяжести, фаза ремиссии.

Считает себя больным с 58 летнего возраста.

Лечение последний год – симбикорт 320/9 мкг (будесонид 320 мкг и формотерол 9 мкг) по 1 вдоху 2 раза в день. Сальбутамола по требованию.

Сопутствующая патология представлена хроническим бронхитом, вне обострения; хроническим гастритом, вне обострения; ЖКБ; хроническим тонзилитом, вне обострения. Отмечает редкие эпизоды повышения АД до 140/90 мм рт ст. Гипотензивной терапии не получает.

Не курит, профессиональных вредностей нет. Отмечается наследственная предрасположенность - бабушка страдала бронхиальной астмой.

Вес – 98 кг, рост – 168 см. ИМТ=34,7 кг/м².

Поступила в клинику для проведения обследования.

Выделение мокроты не отмечает.

При проведении обследования отмечается небольшое повышение АЛТ, изменений в клиническом анализе крови нет.

По результатам функционального исследования легких: обструктивные нарушения вентиляционной способности легких, прирост ОФВ1 после ингаляции сальбутамола – 11%.

Нами было проведено специальное обследование с определением уровней апелина-12, апелина-36, IL-4, IL-10 и TNF- α в плазме крови и уровня APJ-рецептора лимфоцитов периферической крови. Концентрация уровня апелина-12 в плазме крови составила – 555,7 пг/мл, апелина-36 – 239,6 пг/мл, IL-4 – 3,8 пг/мл, IL-10 – 4,0 пг/мл, TNF- α – 9,0 пг/мл. Уровень APJ-рецептора лимфоцитов периферической крови составил 17,8 пг/мл в 10^7 клетках.

В заключение отметим, что уровень APJ-рецептора лимфоцитов периферической крови в фазе обострения БА существенно не отличается от его уровня в контрольной группе, не зависит от варианта заболевания, однако в фазе ремиссии снижается в сравнении с его уровнем в фазе обострения заболевания.

В фазе обострения БА при аллергическом варианте отмечаются положительная корреляция уровня APJ-рецептора со скоростным показателем ФВД, а при неаллергическом варианте бронхиальной астмы – отрицательная корреляция. При этом выявлены отрицательные корреляционные связи уровня APJ-рецептора в фазе затихающего обострения как с курсовой дозой внутривенно вводимых глюкокортикостероидов, так и с суточной дозой ИКС, получаемых пациентами в фазе обострения.

3.4 Характеристика уровней апелина-12 и апелина-36 в мокроте больных бронхиальной астмой

В нашей работе мы впервые установили наличие содержания апелина-12 и апелина-36 в мокроте больных АБА и НАБА (таблица 3.4.1 и таблица 3.4.2) и оценили возможную связь уровней изучаемых апелинов с функциональными

показателями органа-мишени (ФВД), а также лабораторными данными обследования больных БА (таблица 3.4.3 и таблица 3.4.4).

Таблица 3.4.1 - Уровни апелина-12 в мокроте (пг/мл) в зависимости от клинико-патогенетического варианта БА и от результата посева мокроты

Группа обследования	n	Медиана и процентиля (25 75)	Достоверность различий
АБА	7	8,93 (3,44 13,46)	p>0,05
НАБА	6	7,36 (2,84 13,78)	
Больные БА с положительным посевом мокроты	8	6,93 (3,2 12,25)	p>0,05
Больные БА с отрицательным посевом мокроты	4	5,75 (1,63 15,65)	

Примечание: для определения уровня значимости использован критерий Манна-Уитни для независимых выборок (непараметрическая статистика).

Таблица 3.4.2 - Уровни апелина-36 в мокроте (пг/мл) в зависимости от клинико-патогенетического варианта и от результата посева мокроты

Группа обследования	n	Медиана и процентиля (25 75)	Достоверность различий
АБА	7	60,48 (13,64 74,34)	p>0,05
НАБА	6	58,80 (14,53 71,83)	
Больные БА с положительным посевом мокроты	8	32,64 (14,00 71,65)	p>0,05
Больные БА с отрицательным посевом мокроты	4	64,66 (23,38 69,20)	

Примечание: для определения уровня значимости использован критерий Манна-Уитни для независимых выборок (непараметрическая статистика).

Не было обнаружено достоверных различий между уровнями А12 и А36 при различных вариантах БА. Однако мы можем наблюдать тенденцию к снижению уровней апелинов при НАБА, а также тенденцию к снижению уровня А36 в мокроте в группе больных БА с положительным бактериологическим посевом мокроты. Не было обнаружено различий между уровнями апелинов в мокроте в зависимости от ИМТ(кг/м²), возраста, пола, степени тяжести БА.

Таблица 3.4.3 - Корреляционные связи уровней апелина-12 (пг/мл) в мокроте с показателями лабораторного и инструментального обследования у больных БА

Показатель	АБА	НАБА	АБА+ НАБА
1	2	3	4
ООЛ_0_относ	0,829*; n=6 p=0,042	-0,429; n =6 p>0,05	0,154; n =12 p>0,05
ОЕЛ_1_относ	0,314; n =6 p>0,05	-0,829*; n =6 p=0,042	-0,287; n =12 p>0,05
ЖЕЛ_0_относ	-0,643; n=7 p>0,05	-0,829*; n=6 p=0,042	-0,681*; n =13 p=0,01
ЖЕЛ_1_относ	-0,036; n =7 p>0,05	-0,943*; n =6 p=0,005	-0,456; n =13 p>0,05
ФЖЕЛ_0_относ	-0,679; n =7 p>0,05	-0,714; n =6 p>0,05	-0,665; n =13 p=0,013*
ФЖЕЛ_1_относ	0,250; n =7 p>0,05	0,886*; n =8 p=0,019	-0,313; n =13 p>0,05
РаО ₂ _0	0,900*; n =5 p=0,037	-0,435; n =6 p>0,05	0,050; n =10 p>0,05
Средний объем эритроцита (fl)	0,491; n =7 p>0,05	0,943*; n =6 p=0,005	0,727*; n =13 p=0,005
Билирубин прямой (мкмоль/л)	-0,893*; n =7 p=0,007	-0,600; n =6 p>0,05	-0,713*; n =13 p=0,006

Продолжение таблицы 3.4.3

1	2	3	4
Цветовой показатель	-0,216; n =7 p>0,05	0,841*; n=6 p=0,036	0,493; n =13 p>0,05
Эозинофилы периферической крови ($10^9/\text{л}$)	0,000; n =7 p>0,05	0,900*; n =5 p=0,037	0,329; n =12 p>0,05
Относительное кол-во эозинофилов в мокроте (%)	-0,607; n =7 p>0,05	-0,943*; n =6 p=0,005	-0,762*; n =13 p=0,002

Примечание: знаком* обозначены статистически значимые корреляции; для выборок указаны значения коэффициента корреляция Спирмена (непараметрическая статистика). 0 – проба до ингаляции β_2 -адреномиметика; 1 - проба после ингаляции β_2 -адреномиметика.

Из таблицы 3.4.3 видно, что имеются сильные отрицательные корреляционные связи с показателями ФВД: ЖЕЛ, ФЖЕЛ, ОЕЛ. Данные связи противоположны наблюдаемым нами в таблице 3.1.5, при анализе A12 в плазме крови. Также наблюдаются положительные корреляции между A12 и цветовым показателем, средним объемом эритроцита.

В группе НАБА отмечается положительная корреляция A12 в мокроте с эозинофилами периферической крови и отрицательная корреляция с количеством эозинофилов в мокроте. При введении отношения количества нейтрофилов в мокроте к количеству эозинофилов в мокроте (нейтрофилы/эозинофилы) наблюдалась положительная корреляция с уровнем A12 в мокроте ($r=0,731$ $n=13$ $p=0,005$), т.е. смещение воспаления в эозинофильную сторону связано со снижением уровня A12 в мокроте. Достоверных корреляционных связей с уровнем A36 в мокроте не наблюдалось.

Таблица 3.4.4 - Корреляционные связи уровня апелина-36 (пг/мл) в мокроте с показателями лабораторного и инструментального обследования у больных БА

Показатель	АБА	НАБА
1	2	3
ФЖЕЛ_0_фак	0,107; n =7 p>0,05	0,829*; n =6 p=0,042
ОФВ1/ФЖЕЛ_0_фак	-0,821*; n =7 p=0,023	0,429; n =6 p>0,05
ОФВ1/ФЖЕЛ_1_фак	-0,786*; n =7 p=0,036	0,829*; n =6 p=0,042
ОВФ1_0_фак	-0,393; n =7 p>0,05	0,829*; n =6 p=0,042
ОВФ1_1_фак	-0,143; n =7 p>0,05	0,943*; n =6 p=0,005
СОСвыд_0_фак	-0,714; n =7 p>0,05	0,886*; n =6 p=0,019
ПОСвд_0_фак	-0,143; n =7 p>0,05	0,829*; n =6 p=0,042
МОС50вд_0_фак	-0,143; n =7 p>0,05	0,829*; n =6 p=0,042
Раwвыд_0_фак	0,657; n =6 p>0,05	-0,829*; n =6 p=0,042
SGaw_1_фак	-0,886*; n =6 p=0,019	0,116; n =6 p>0,05
PaO ₂ _1	0,400; n =4 p>0,05	-0,829*; n =6 p=0,042
ОЕЛ_1_относ	0,829*; n =6 p=0,042	0,086; n =6 p>0,05

Продолжение таблицы 3.4.4

1	2	3
ЖЕЛ_1_относ	-0,821*; n =7 p=0,023	0,486; n =6 p>0,05
ФЖЕЛ_0_относ	-0,679; n =7 p>0,05	0,886*; n =6 p=0,019
ОВФ1_0_относ	-0,893*; n =7 p=0,007	0,771; n =6 p=0,072
ОВФ1_1_относ	-0,821*; n =7 p=0,023	0,657; n =6 p>0,05
СОС_0_относ	-0,857*; n =7 p=0,014	0,486; n =6 p>0,05
СОС_1_относ	-0,857*; n =7 p=0,014	0,714; n =6 p>0,05
ОФВ1/ФЖЕЛ_0_относ	-0,821*; n =7 p=0,023	0,371; n =6 p>0,05
МОС50_0_относ	-0,821*; n =7 p=0,023	0,486; n =6 p>0,05
МОС50_1_относ	-0,857*; n =7 p=0,014	0,600; n =6 p>0,05
ПОСВЫД_1_относ	0,429; n =7 p>0,05	0,829*; n =6 p=0,042
SGaw_1_относ	-0,886*; n =6 p=0,019	0,116; n =6 p>0,05
Прирост ОФВ1	0,857*; n =7 p=0,014	-0,200; n =6 p>0,05
Среднее содержание гемоглобина в эритроците (ш)	0,847*; n =7 p=0,016	-0,580; n =6 p>0,05

Продолжение таблицы 3.4.4

1	2	3
Средняя концентрация гемоглобина в эритроците (г/л)	0,775*; n =7 p=0,041	-0,725; n =6 p>0,05
Цветовой показатель	0,847*; n =7 p=0,016	-0,609; n =6 p>0,05
Относительное кол-во эозинофилов периферической крови (%)	0,949; n =4 p=0,051	-0,800; n =4 p>0,05
Относительное кол-во нейтрофилов в мокроте (%)	-0,429; n =7 p>0,05	-0,829*; n =6 p=0,042

Примечание: знаком* обозначены статистически значимые корреляции; для выборок указаны значения коэффициента корреляция Спирмена (непараметрическая статистика). 0 – проба до ингаляции β 2-адреномиметика; 1- проба после ингаляции β 2-адреномиметика.

При анализе таблицы 3.4.4 видно, что наблюдаются корреляционные связи АЗ6 в мокроте с показателями ФВД разной направленности при АБА и НАБА. Так, при АБА сильные положительные корреляции уровня АЗ6 в мокроте с ОЕЛ и величиной прироста ОФВ1 после ингаляции β 2-адреномиметика, а отрицательные со скоростными показателями спирометрии и плетизмографии. Корреляционная связь с Raw положительная, хотя и не достигает уровня достоверности. При НАБА, наоборот, положительные корреляции со скоростными показателями спирометрии и отрицательная корреляционная связь с Raw. С величиной прироста ОФВ1 после ингаляции β 2-адреномиметика наблюдается отрицательная корреляционная связь, не достигающая уровня достоверности. В группе НАБА также наблюдается отрицательная корреляционная связь с парциальным давлением кислорода в капиллярной крови. При анализе корреляционных связей вышеперечисленных показателей с уровнем АЗ6 в плазме крови (таблица 3.2.7) не наблюдалось такого разнообразия достоверных корреляций, однако имеющиеся носили отрицательный характер.

Корреляционные связи уровней цитокинов с уровнем А36 в мокроте не достигали значимости.

Также в таблице 3.4.4 можно наблюдать положительные корреляционные связи насыщенности гемоглобином эритроцитов и уровнем А36 в мокроте в группе АБА. Отрицательная корреляционная связь количества нейтрофилов в мокроте с уровнем А36 в мокроте в группе НАБА, тенденция сохраняется и в группе АБА.

Не было обнаружено корреляционных связей, достигавших уровня достоверности, между А12 и А36 в мокроте, а также между уровнями этих изоформ апелинов в плазме крови и мокроте.

Не обнаружено корреляционных связей, достигающих уровня достоверности между уровнями апелинов в мокроте и дозами ИКС и парентеральных ГКС. Однако у больных БА с положительным бактериологическим посевом мокроты наблюдается положительная корреляционная связь А36 в мокроте с проведением антибактериальной терапии ($p=0,756$ $n=8$ $p=0,03$). Не найдено корреляций между уровнями апелинов и цитокинов в мокроте.

Интерлейкин-10 имел обратную корреляционную связь с проведением антибактериальной терапии ($p=-0,534$ $n=13$ $p=0,033$), а интерлейкин-4 – положительную ($p=0,828$ $n=6$ $p=0,042$).

Уровень адипонектина коррелировал с суточной дозой ИКС положительно ($p=0,531$ $n=13$ $p=0,015$), а лептин в мокроте - положительно с проведением антибактериальной терапии ($p=0,471$ $n=15$ $p=0,045$). Связи этих адипокинов с уровнями А12 и А36 в мокроте больных БА не наблюдалось.

Как известно, одной из сопутствующих патологий, усугубляющих течение БА, является гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь (ГЭРБ). Среди обследованных больных БА у 1/3 пациентов в анамнезе была ГЭРБ. Для более точного понимания наличия взаимосвязи изменений был введен интегральный индекс А12 (в плазме крови)/А12 (в мокроте). Оценка уровня А12 у больных БА с сопутствующей патологией в виде ГЭРБ и без нее представлена в таблице 3.4.5.

Таблица 3.4.5 - Уровни апелина-12 (пг/мл) в мокроте и в плазме крови в зависимости от наличия сопутствующей ГЭРБ у больных БА

Группа обследования	Больные БА и ГЭРБ		Больные БА без ГЭРБ		Достоверность различий
	Медиана и процентиля (25 75)	n	Медиана и процентиля (25 75)	n	
Апелина-12 в плазме крови	340,09 (216,07 450,60)	31	405,96 (320,08 512,04)	60	P=0,036*
Апелин-12 в мокроте	3,22 (1,161 3,44)	3	10,65 (4,5 14,32)	10	P=0,049*
A12 (плазмы крови)/A12(мокроты)	126,18 (67,04 196,81)	3	29,70 (23,21 77,48)	9	P=0,064

Примечание: знаком* отмечены статистически значимые различия; для определения уровня значимости использован критерий Манна-Уитни для независимых выборок (непараметрическая статистика).

Из таблицы 3.4.5 видно, что у больных БА и ГЭРБ уровень A12 в плазме крови и мокроте более низкий, чем у лиц не страдающих ГЭРБ. Индекс A12(плазма крови)/A12(мокрота) был более низким у больных БА без сопутствующей ГЭРБ, хотя различия и не достигали уровня достоверности, однако мы можем предположить, что в группе больных БА и ГЭРБ наблюдалось более выраженное снижение уровня A12 в мокроте, чем в плазме крови. Различия по уровням A36 в плазме крови и в мокроте в данных группах не достигали уровня достоверности и были крайне незначительные.

При анализе всех больных БА отмечалась отрицательная корреляционная связь уровня плазматического A12 с наличием язвенной болезни желудка или двенадцатиперстной кишки ($\rho=-0,218$; $n=86$; $p=0,044$).

В заключение отметим, что нами не обнаружено зависимости уровней A12 и A36 в мокроте больных БА от варианта заболевания. Однако характер рассмотренных корреляционных связей позволяет предположить, что различные изоформы апелинов могут принимать протективное участие в патогенезе БА на уровне органа-мишени, по-видимому, в качестве паракринных регуляторов.

3.5 Характеристика интегральных индексов адипокинов в плазме крови

Определение уровней лептина, резистина, адипонектина в плазме крови у больных БА выполнено совместно с д.м.н., доцентом Лалаевой Т.М.

Лептин является наиболее изученным гормоном жировой ткани. Он регулирует энергетический обмен, его еще называют «гормоном голода». Несмотря на то, что лептин способствует снижению массы тела, у больных ожирением он часто значительно повышен. Данный феномен связывают с эффектом лептинрезистентности. Использование лептина в общей популяции для лечения ожирения оказалось нецелесообразным и сейчас его использование рассматривается по индивидуальным показаниям, таким как мутация гена лептина [115].

Лептин является провоспалительным медиатором иммунного ответа. Специфическая роль лептина в патогенезе БА находится в процессе изучения. Известно, что у больных БА отмечается повышение уровня лептина в плазме крови, существует его прямая корреляционная связь с уровнем IL-10 в плазме крови и обратная с показателями бронхиальной проходимости [2].

Самым известным физиологическим действием резистина является его ослабляющее действие на усвоение глюкозы [7]. Однако в дальнейшем он привлек внимание исследователей как провосполительный адипокин. Известно, что помимо жировой ткани его продуцируют макрофаги. Считается, что резистин может служить как сигнальная молекула, инициирующая иммунный ответ и способствующая продукции провоспалительных цитокинов [115].

При исследовании резистина у детей больных АБА отмечали снижение его уровня, наблюдались отрицательные корреляционные связи между уровнем резистина в плазме крови и эозинофилами периферической крови и положительные – с показателями пробы гиперреактивности бронхов. У взрослых больных БА в фазе обострения наблюдалось повышение уровня резистина в плазме [2].

Адипонектин считается антиатеросклеротическим фактором, тормозящим пролиферацию и миграцию гладкомышечных клеток, превращение макрофагов в пенистые клетки, обладающие антиоксидантной активностью. Адипонектин повышает синтез оксида азота [115], ингибирует эффекты провоспалительных цитокинов, индуцирует экспрессию противовоспалительных цитокинов [2]. Однако, некоторыми авторами адипонектин рассматривается как провоспалительный адипокин [123]. Противовоспалительным эффектам адипонектина отводится протективная роль при БА [114]. У взрослых больных БА отмечалось повышение уровня адипонектина [2].

Чтобы уточнить представление о роли апелина в патогенезе БА были введены индексы характеризующие баланс апелина с другими адипокинами. Лептин и резистин рассматривались как провоспалительные адипокины, а адипонектин – как противовоспалительный адипокин.

На основе предложенной D.S. Popovic et al. [106] формулы для оценки роли адипокинов при метаболическом синдроме, были разработаны следующие индексы:

$$\text{Индекс-1} = \frac{\text{уровень апелина} - 12}{\sqrt{\text{уровень лептина} + \text{уровень резистина}}}$$

$$\text{Индекс-2} = \frac{\text{уровень адипонектина}}{\sqrt{\text{уровень лептина} + \text{уровень резистина}}}$$

$$\text{Индекс-3} = \frac{\text{уровень апелина} - 36}{\sqrt{\text{уровень лептина} + \text{уровень резистина}}}$$

Достоверных различий по величине индексов при разных клинико-патогенетических вариантах БА, а также в сравнении с ПЗЛ получено не было. Решено было разделить больных БА на лиц с секрецией мокроты и без (таблица 3.5.1).

Таблица 3.5.1 – Значение интегральных индексов в зависимости от бронхитического компонента

Группа обследования	n	Медиана и процентиля (25 75)		Достоверность различий
		Индекс-1	Индекс-2	
Больные БА с секрецией мокроты	32	74,62 (50,96 110,57)	1,71 (1,19 2,63)	$P_{\text{индекс1}}=0,025^*$ $P_{\text{индекс2}}=0,063$
Больные БА без секреции мокроты	12	108,67 (73,76 144,06)	3,87 (1,13 4,65)	
ПЗЛ	10	61,98 (43,03 166,79)	1,81 (1,05 2,46)	$P_{\text{индекс1}}>0,05$ $P_{\text{индекс2}}>0,05$

Примечание: знаком* отмечены статистически значимые различия; для определения уровня значимости использован критерий Манна-Уитни для независимых выборок (непараметрическая статистика).

У больных с секрецией мокроты значение индекса-1 было ниже, чем у больных без секреции мокроты. Различия по индексу-2, хоть и не достигали уровня достоверности, но сохраняли ту же направленность. Достоверных различий этих групп с ПЗЛ не обнаружено, однако, видно, что значения индексов в группе ПЗЛ занимают промежуточное положение (таблица 3.5.1).

Значение индекса-3 не оценивалось в связи с малым количеством наблюдений в одной из групп.

Таблица 3.5.2 - Значение интегральных индексов в зависимости от бронхитического и бактериального компонента мокроты

Группа обследования	n	Медиана и процентиля (25 75)		Достоверность различий в сравнении с группой больных БА без секреции мокроты (таблица 3.5.1)
		Индекс-1	Индекс-2	
Больные БА с секрецией мокроты и отрицательным результатом посева мокроты	17	66,37 (49,53 106,42)	1,52 (1,16 2,17)	$P_{\text{индекс1}}=0,038^*$ $P_{\text{индекс2}}>0,05$
Больные БА с секрецией мокроты и положительным результатом посева мокроты	11	75,53 (51,30 114,77)	1,89 (0,93 3,24)	

Примечание: знаком* отмечены статистически значимые различия; для определения уровня значимости использован критерий Краскала-Уолиса (непараметрическая статистика).

Как видно из таблицы 3.5.2, наименьшее значение индекса-1 наблюдается в группе больных БА с секрецией мокроты и отрицательным результатом посева мокроты, а наибольшее у больных БА в фазе обострения, не сопровождающейся секрецией мокроты. Индекс-2 демонстрирует схожие тенденции с индексом-1, хотя различия и не достигают уровня значимости.

Полученные результаты могут свидетельствовать о сдвиге баланса адипокинов в противовоспалительную сторону у больных БА в фазе обострения, но без выраженного бронхитического компонента. У больных с секрецией мокроты можно предположить отсутствие сдвига и, как следствие, более выраженный воспалительный процесс, приводящий к более выраженной секреции мокроты и присоединении инфекции в дальнейшем.

Схожесть изменений индекса-1 и индекса-2 может косвенно указывать, что апелин, вероятно, играет, как и адипонектин, противовоспалительную роль.

Нами не обнаружено различий значений индекса-1 и индекса-3 у больных БА в зависимости от ИМТ ($\text{кг}/\text{м}^2$). Это еще раз подтверждает, полученные нами ранее данные, что ИМТ ($\text{кг}/\text{м}^2$) не вносит существенного вклада в уровень плазматического апелина. Индекс-2 был выше у больных БА без повышения ИМТ ($\text{кг}/\text{м}^2$) (2,20 (1,45–4,20); $n=23$), чем у больных с ИМТ ($\text{кг}/\text{м}^2$) ≥ 25 (1,37 (1,01–2,40); $n=21$; $p=0,008$). В работе Лалаевой Т.М. [2] отмечались более высокие значения адипонектина у ПЗЛ и больных АБА моложе 45 лет с ИМТ < 25 ($\text{кг}/\text{м}^2$). Уровень резистина был выше у больных АБА с ИМТ ≥ 25 ($\text{кг}/\text{м}^2$). Наблюдаемые нами изменения индекса-2 согласуются с этими данными.

Рассмотрим корреляционные связи интегральных индексов с лабораторными и инструментальными показателями у больных БА (таблица 3.5.3 и таблица 3.5.4).

Таблица 3.5.3 - Корреляционные связи интегральных индексов с лабораторными и инструментальными показателями в группе всех больных бронхиальной астмой

Показатели	Индекс-1	Индекс-2	Индекс-3
1	2	3	4
СОСвыд_0_фак	0,354*; $n=43$ $P=0,020$	-0,200; $n=43$ $P>0,05$	0,543; $n=6$ $P>0,05^p$
СОСвыд_1_фак	0,375*; $n=44$ $P=0,012$	-0,004; $n=44$ $P>0,05$	0,429; $n=6$ $P>0,05^p$

Продолжение таблицы 3.5.3

1	2	3	4
МОС50выд_0_фак	0,343*; n=44 P=0,022	-0,171; n=44 P>0,05	0,257; n=6 P>0,05 ^p
МОС50выд_1_фак	0,318*; n=44 P=0,040	-0,034; n=44 P>0,05	0,314; n=6 P>0,05 ^p
МОС75выд_0_фак	0,394*; n=43 P=0,009	-0,201; n=43 P>0,05	0,543; n=6 P>0,05 ^p
МОС75выд_1_фак	0,511*; n=44 P<0,001	0,040; n=44 P>0,05	0,522; n=6 P>0,05 ^p
Raw_0_фак	-0,393*; n=42 P=0,013	0,124; n=42 P>0,05	-0,143; n=6 P>0,05 ^p
Raw_1_фак	-0,428*; n=42 P=0,01	0,088; n=42 P>0,05	-0,657; n=6 P>0,05 ^p
Raw вд._0_фак	-0,358*; n=42 P=0,020	-0,050; n=42 P>0,05	-0,143; n=6 P>0,05 ^p
Raw вд._1_фак	-0,381*; n=41 P=0,014	-0,043; n=41 P>0,05	-0,771; n=6 P>0,05 ^p
Raw выд._0_фак	-0,341*; n=42 P=0,027	0,094; n=42 P>0,05	-0,086; n=6 P>0,05 ^p
Raw выд._1_фак	-0,405* ; n=42 P=0,008	0,058; n=42 P>0,05	-0,429; n=6 P>0,05 ^p
SGaw_1_фак	0,345*; n=41 P=0,027	-0,194; n=41 P>0,05	0,143; n=6 P>0,05 ^p
pH_0 (КОС)	-0,386*; n=41 P=0,013	0,192; n=41 P>0,05	-0,205; n=5 P>0,05 ^p
pH_1 (КОС)	-0,395*; n=37 P=0,016	-0,076; n=37 P>0,05	-0,800; n=4 P>0,05 ^p

Продолжение таблицы 3.5.3

1	2	3	4
СОСвыд_0_относ	0,384*; n=43 P=0,011	-0,181; n=43 P>0,05	0,029; n=6 P>0,05 ^p
СОСвыд_1_относ	0,411*; n=44 P=0,006	0,025; n=44 P>0,05	0,029; n=6 P>0,05 ^p
МОС50выд_0_относ	0,377*; n=44 P=0,012	-0,121; n=44 P>0,05	0,029; n=6 P>0,05 ^p
МОС50выд_1_относ	0,332*; n=44 P=0,028	-0,010; n=44 P>0,05	0,143; n=6 P>0,05 ^p
МОС75выд_0_относ	0,452*; n=43 P=0,002	-0,279; n=43 P>0,05	0,314; n=6 P>0,05 ^p
МОС75выд_1_относ	0,574*; n=44 P<0,001	0,071; n=44 P>0,05	0,314; n=6 P>0,05 ^p
Содержание лейкоцитов в периферической крови (10 ⁹ /л)	-0,424*; n=44 P=0,004	-0,002; n=44 P>0,05	-0,543; n=6 P>0,05 ^p
Содержание лимфоцитов в периферической крови (10 ⁹ /л)	-0,011; n=43 P>0,05 ^p	-0,431*; n=43 p=0,004 ^p	-0,257; n=6 p>0,05 ^p
Содержание моноцитов в периферической крови (10 ⁹ /л)	-0,084; n=43 P>0,05	-0,352*; n=43 P=0,021	-0,371; n=6 P>0,05 ^p
Содержание нейтрофилов в периферической крови (10 ⁹ /л)	-0,330*; n=43 P=0,031 ^p	-0,357* ; n=43 P=0,019	-0,771; n=6 P>0,05 ^p
Содержание базофилов в периферической крови (10 ⁹ /л)	-0,029; n=43 P>0,05	-0,379* n=43 P=0,012 ^p	-0,348; n=6 P>0,05 ^p
Содержание эозинофилов в периферической крови (%)	0,568*; n=19 P=0,011 ^p	-0,077; n=19 P>0,05	-0,112; n=6 P>0,05 ^p
Содержание сегментоядерных нейтрофилов в периферической крови (%)	-0,539*; n=25 P=0,005	0,181; n=25 P>0,05	-0,464; n=6 P>0,05 ^p

Продолжение таблицы 3.5.3

1	2	3	4
Содержание лимфоцитов в периферической крови, (%)	0,545*; n=25 P=0,005	-0,120; n=25 P>0,05	-0,696; n=6 P>0,05 ^p
Содержание моноцитов в периферической крови (%)	-0,149; n=25 P>0,05	-0,476*; n=25 P=0,016 ^p	-0,638; n=6 P>0,05 ^p
СОЭ (мм/ч)	-0,190; n=44 P>0,05	-0,142; n=44 P>0,05	-0,771; n=6 P=0,072 ^p
IL-10 (пг/мл) в плазме крови	-0,585*; n=22 P=0,004 ^p	-0,470*; n=22 P=0,027 ^p	-0,314; n=6 P>0,05 ^p
Относительное кол-во нейтрофилов в мокроте (%)	0,175; n=29 P>0,05 ^p	0,338; n=30 P>0,05 ^p	0,900*; n=5 P=0,037 ^p

Примечание: знаком* обозначены статистически значимые корреляции; для выборок указаны значения коэффициента корреляция Пирсона. Нормальность распределения проверена тестом Колмогорова-Смирнова. (параметрическая статистика). Знаком^p – обозначено значение коэффициента корреляции Спирмана. (непараметрическая статистика) 0 – проба до ингаляции β2-адреномиметика; 1- проба после ингаляции β2-адреномиметика.

Таблица 3.5.4 - Корреляционные связи интегральных индексов с лабораторными и инструментальными показателями в группе больных аллергической бронхиальной астмой и неаллергической бронхиальной астмой

Показатели	АБА			НАБА	
	Индекс-1	Индекс-2	Индекс-3	Индекс-1	Индекс-2
1	2	3	4	5	6
ЖЕЛ_0_фак	0,394*; n=30 P=0,031 ^p	0,186 n=30 P>0,05 ^p	0,600 n=5 P>0,05 ^p	-0,282; n=14 P>0,05	-0,386 n=14 P>0,05

Продолжение таблицы 3.5.4

1	2	3	4	5	6
ЖЕЛ_1_фак	0,407* n=30 P=0,026 ^p	0,199 n=30 P>0,05 ^p	0,700 n=5 P>0,05 ^p	-0,364 n=14 P>0,05	-0,433 n=14 P>0,05
ФЖЕЛ_0_фак	0,377* n=30 P=0,04 ^p	0,073 n=30 P>0,05 ^p	0,600 n=5 P>0,05 ^p	-0,199 n=14 P>0,05	-0,349 n=14 P>0,05
ФЖЕЛ_1_фак	0,419* n=30 P=0,021 ^p	0,168 n=30 P>0,05 ^p	0,700 n=5 P>0,05 ^p	-0,383 n=14 P>0,05	-0,471 n=14 P>0,05
СОСвыд_0_фак	0,365* n=30 P=0,004	-0,138 n=30 P>0,05	0,500 n=5 P>0,05 ^p	-0,090 n=14 P>0,05	-0,461 n=14 P>0,05
СОСвыд_1_фак	0,537* n=30 P=0,002	0,096 n=30 P>0,05	0,300 n=5 P>0,05 ^p	-0,001 n=14 P>0,05	-0,377 n=14 P>0,05
ПОСвыд_1_фак	0,365* n=30 P=0,047	0,013 n=30 P>0,05	0,900* n=5 P=0,037 ^p	-0,200 n=14 P>0,05	-0,461 n=14 P>0,05
ПОСвд_1_фак	0,433* n=30 P=0,017	0,172 n=30 P>0,05	0,800 n=4 P>0,05 ^p	-0,203 n=14 P>0,05	-0,291 n=14 P>0,05
МОС50выд_0_фак	0,462* n=30 P=0,010	-0,144 n=30 P>0,05	0,300 n=5 P>0,05 ^p	0,085 n=14 P>0,05	-0,280 n=14 P>0,05
МОС50выд_0_фак	0,462* n=30 P=0,010	-0,144 n=30 P>0,05	0,300 n=5 P>0,05 ^p	0,024 n=13 P>0,05	-0,366 n=13 P>0,05

Продолжение таблицы 3.5.4

1	2	3	4	5	6
МОС75выд_0_фак	0,573* n=30 P=0,001	-0,137 n=30 P>0,05	0,500 n=5 P>0,05 ^p	-0,189 n=13 P=0,028	-0,510 n=13 P>0,05
МОС75выд_1_фак	0,706* n=30 P<0,001	0,117 n=30 P>0,05	0,5 n=5 P>0,05 ^p	-0,09 n=14 P>0,05	0,364 n=14 P>0,05
Raw_0_фак	-0,421* n=28 P=0,026	0,116 n=28 P>0,05	-0,200 n=5 P>0,05 ^p	-0,278 n=14 P>0,05	0,162 n=28 P>0,05
Raw_1_фак	-0,430* n=28 P=0,022	0,108 n=28 P>0,05	-0,600 n=5 P>0,05 ^p	-0,293 n=14 P>0,05	-0,021 n=14 P>0,05
Raw вд._0_фак	-0,383* n=28 P=0,044	0,019 n=28 P>0,05	-0,200 n=5 P>0,05 ^p	-0,288 n=28 P>0,05	0,158 n=14 P>0,05
Raw вд._1_фак	-0,427* n=27 P=0,026	-0,047 n=27 P=0,055	-0,600 n=5 P>0,05 ^p	-0,271 n=14 P>0,05	-0,023 n=14 P=0,055
Raw выд._1_фак	-0,443* n=28 P=0,018	0,074 n=28 P>0,05	-0,300 n=5 P>0,05 ^p	-0,249 n=28 P>0,05	-0,004 n=14 P>0,05
SGaw_1_фак	0,437* n=27 P=0,023	-0,233 n=27 P>0,05	0,100 n=5 P>0,05 ^p	0,261 n=14 P>0,05	-0,06 n=14 P>0,05
PaO ₂ _0	0,398* n=28 P=0,036 ^p	0,110 n=28 P>0,05 ^p	0,400 n=4 P>0,05 ^p	-0,288 n=13 P>0,05	-0,475 n=13 P>0,05

Продолжение таблицы 3.5.4

1	2	3	4	5	6
pH_0_фак	-0,423* n=25 P=0,031	-0,013 n=28 P>0,05	-0,200 n=5 P>0,05 ^p	-0,431 n=13 P>0,05	-0,37 n=13 P>0,05
pH_1_фак	0,437* n=27 P=0,023	-0,233 n=27 P>0,05	0,500 n=4 P>0,05 ^p	0,381 n=12 P>0,05	-0,279 n=12 P>0,05
СОСвыд_0_относ	0,425* n=30 P=0,004	-0,138 n=30 P>0,05	0,100 n=5 P>0,05 ^p	0,251 n=13 P>0,05	-0,276 n=13 P>0,05
СОСвыд_1_относ	0,537* n=30 P=0,019	-0,161 n=30 P>0,05	0,100 n=5 P>0,05 ^p	0,309 n=30 P>0,05	-0,201 n=30 P>0,05
МОС50_0_относ	0,389* n=30 P=0,035	0,085 n=30 P>0,05	-0,100 n=5 P>0,05 ^p	0,365 n=14 P=0,017	-0,111 n=3014 P=0,018
МОС75_0_относ	0,560* n=30 P=0,001	-0,146 n=30 P>0,05	0,300 n=5 P>0,05 ^p	0,082 n=13 P>0,05	-0,363 n=13 P>0,05
МОС75_1_относ	0,702* n=30 P<0,001	0,116 n=30 P>0,05	0,300 n=5 P>0,05 ^p	0,165 n=13 P>0,05	-0,221 n=13 P>0,05
Прирост ОФВ1	0,052 n=30 P>0,05	0,485* n=30 P=0,007	0,400 n=5 P>0,05 ^p	-0,431 n=14 P=0,035	-0,121 n=14 P>0,05
Эритроциты периферической крови (10 ¹² /л)	0,461* n=30 P=0,01 ^p	0,207 n=30 P>0,05	0,900* n=5 P=0,037 ^p	-0,564* n=14 P=0,035	0,286 n=14 P>0,05

Продолжение таблицы 3.5.4

1	2	3	4	5	6
гемоглобин (г/л)	0,384* n=30 P=0,036 ^p	0,220 n=30 P>0,05	0,900* n=5 P=0,037 ^p	-0,437 n=14 P>0,05	-0,091 n=14 P>0,05
Средний объем тромбоцитов периферической крови (fl)	-0,376* n=30 P=0,04 ^p	-0,253 n=30 P>0,05 ^p	-0,600 n=5 P>0,05 ^p	0,286 n=14 P>0,05	0,486 n=14 P>0,05
Содержание лейкоцитов в периферической крови (10 ⁹ /л)	-0,350 n=30 P=0,058	0,037 n=30 P>0,05	-0,500 n=5 P>0,05 ^p	-0,683* n=14 P=0,007	-0,227 n=14 P>0,05
Содержание лимфоцитов в периферической крови (10 ⁹ /л)	-0,132 n=30 P>0,05	-0,529* n=30 P=0,003 ^p	-0,100 n=5 P>0,05 ^p	0,561* n=13 P=0,046	-0,108 n=13 P=0,027
Содержание нейтрофилов в периферической крови (10 ⁹ /л)	-0,356 n=30 P=0,054	-0,372* n=30 P=0,043	-0,900* n=5 P=0,037 ^p	0,182 n=13 P>0,05	-0,316 n=13 P>0,05
Содержание моноцитов в периферической крови (10 ⁹ /л)	-0,244 n=30 P>0,05	-0,398* n=30 P=0,029	-0,500 n=5 P>0,05 ^p	0,438 n=13 P>0,05	-0,189 n=13 P>0,05
Содержание базофилов в периферической крови (10 ⁹ /л)	-0,066 n=30 P>0,05	-0,507* n=30 P=0,004 ^p	-0,205 n=5 P>0,05 ^p	-0,656* n=13 P=0,015	-0,03 n=13 P>0,05

Продолжение таблицы 3.5.4

1	2	3	4	5	6
Содержание эозинофилов в периферической крови ($10^9/\text{л}$)	0,184 n=30 P>0,05	-0,122 n=30 P>0,05	-0,211 n=5 P>0,05 ^p	0,593* n=13 P=0,033 ^p	0,066 n=13 P>0,05
Содержание эозинофилов в периферической крови (%)	0,564* n=30 P=0,036 ^p	-0,331 n=30 P>0,05	0,300 n=5 P>0,05 ^p	0,938* n=5 P=0,018	-0,681 n=5 P>0,05
СОЭ (мм/ч)	-0,426* n=30 P=0,019	-0,269 n=30 P>0,05	-0,900* n=5 P=0,037 ^p	-0,141 n=14 P>0,05	-0,207 n=14 P>0,05
IL-10 (пг/мл) в плазме крови	-0,560* n=14 P=0,037 ^p	-0,626* n=14 P=0,017 ^p	-0,300 n=5 P>0,05 ^p	-0,575 n=8 P>0,05 ^p	0,096 n=8 P>0,05 ^p

Примечание: знаком* обозначены статистически значимые корреляции; для выборок указаны значения коэффициента корреляция Пирсона. Нормальность распределения проверена тестом Колмогорова-Смирнова. (параметрическая статистика). Знаком^p – обозначено значение коэффициента корреляции Спирмана. (непараметрическая статистика) 0 – проба до ингаляции β_2 -адреномиметика; 1- проба после ингаляции β_2 -адреномиметика.

В группе больных БА без секреции мокроты и при неаллергическом варианте бронхиальной астмы нами не наблюдалось достоверных корреляционных связей индекса-3 с лабораторными и инструментальными показателями.

Таблица 3.5.5 - Корреляционные связи интегральных индексов с лабораторными и инструментальными показателями в группах больных БА в зависимости от бронхитического компонента

Показатели	Больные БА с секрецией мокроты			Больные БА без секреции мокроты	
	Индекс 1	Индекс 2	Индекс 3	Индекс 1	Индекс 2
1	2	3	4	5	6
ООЛ_0_фак	-0,278 n=30 P>0,05	-0,169 n=30 P>0,05	0,300 n=5 P>0,05	0,236 n=11 P>0,05	0,736* n=11 P=0,01
ООЛ_1_фак	-0,257 n=30 P>0,05	-0,150 n=30 P>0,05	0,700 n=5 P>0,05	0,255 n=11 P>0,05	0,736* n=11 P=0,01
ОЕЛ_1_фак	0,042 n=31 P>0,05	0,199 n=30 P>0,05	0,900* n=5 P=0,037	0,073 n=11 P>0,05	0,318 n=11 P>0,05
Raw_1_фак	-0,304 n=31 P>0,05	-0,357* n=31 P=0,049	-0,800 n=5 P>0,05 ^p	-0,446 n=11 P>0,05	0,128 n=11 P>0,05
Raw вд_1_фак	-0,304 n=31 P>0,05	-0,333 n=31 P=0,067	-0,900* n=5 P=0,037	-0,612 n=10 P>0,05	0,006 n=10 P>0,05
Raw выд_1_фак	-0,330 n=31 P=0,070	0,308 n=31 P>0,05	-0,100 n=5 P>0,05	-0,700* n=11 P=0,016	0,045 n=11 P>0,05
pH_0_фак	0,119 n=30 P>0,05	0,159 n=30 P>0,05	-0,632 n=4 P>0,05	-0,648* n=11 P=0,031	-0,308 n=11 P>0,05

Продолжение таблицы 3.5.5

1	2	3	4	5	6
ОЕЛ_0_относ	-0,406* n=30 P=0,026	-0,272 n=30 P>0,05	-0,300 n=5 P>0,05	0,336 n=11 P>0,05	0,618* n=11 P=0,043
ООЛ_1_относ	-0,193 n=30 P>0,05	-0,228 n=30 P>0,05	0,100 n=5 P>0,05	0,300 n=11 P>0,05	0,636* n=11 P=0,035
ПОСвыд_0_относ	-0,007 n=32 P>0,05	-0,170 n=32 P>0,05	-0,900* n=5 P=0,037	0,308 n=12 P>0,05	-0,266 n=12 P>0,05
Содержание нейтрофилов в периферической крови ($10^9/\text{л}$)	-0,215 n=31 P>0,05	-0,372* n=31 P=0,039	-0,900* n=5 P=0,037	-0,392 n=12 P>0,05	-0,007 n=12 P>0,05
Содержание базофилов в периферической крови ($10^9/\text{л}$)	-0,015 n=31 P>0,05	-0,362* n=31 P=0,045	-0,410 n=5 P>0,05	0,133 n=12 P>0,05	-0,172 n=12 P>0,05
Содержание моноцитов в периферической крови ($10^9/\text{л}$)	-0,151 n=31 P>0,05	-0,376* n=31 P=0,037	-0,500 n=5 P>0,05	-0,141 n=12 P>0,05	-0,225 n=12 P>0,05
Содержание эозинофилов в периферической крови ($10^9/\text{л}$)	0,234 n=30 P>0,05	-0,113 n=30 P>0,05	0,300 n=5 P>0,05	0,098 n=12 P>0,05	-0,650* n=12 P=0,022
Относительное кол-во нейтрофилов в мокроте (%)	0,248 n=30 P>0,05	0,389* n=31 P=0,031	0,900* n=5 P=0,037	-	-

Продолжение таблицы 3.5.5

1	2	3	4	5	6
IL-10 (пг/мл)	-0,380	-0,509*	0,300	-0,943*	-0,029
в плазме крови	n=17	n=17	n=5	n=6	n=6
	P>0,05	P=0,037	P>0,05	P=0,005	P>0,05

Примечание: знаком* обозначены статистически значимые корреляции; указаны значения коэффициента корреляции Спирмана (непараметрическая статистика). 0 – проба до ингаляции β 2-адреномиметика; 1 - проба после ингаляции β 2-адреномиметика.

При анализе корреляционных связей видны обратные связи между индексом-1 и значением бронхиального сопротивления (Raw), а также положительные корреляционные связи между индексом-1 и скоростными показателями спирометрии (СОС, МОС50 и МОС75).

В группе АБА можно наблюдать положительные корреляционные связи значения индекса-1 со статическими объемами (ЖЕЛ) и скоростными показателями спирометрии (ФЖЕЛ, ПОС, СОС, МОС50 и МОС75) и плетизмографии (SGaw); отрицательные корреляционные связи с показателем бронхиального сопротивления.

В группе АБА наблюдаются положительные корреляционные связи значения индекса-3 и скоростных показателей спирометрии, а также значения индекса-2 с величиной прироста ОВФ1 после ингаляции β 2-адреномиметика. В группе НАБА достоверных корреляционных связей не наблюдается. При делении больных БА по наличию секреции мокроты в фазе обострения отрицательная корреляционная связь с показателем бронхиального сопротивления и индексом-1, индексом-2 и индексом-3 наблюдается во всех группах.

В группе больных БА без секреции мокроты можно отметить положительные корреляционные связи статических объемов (ООЛ, ОЕЛ) со значением индекса-2, а в группе с секрецией мокроты со значением индекса-3;

также отрицательную корреляционную связь значения индекса-1 с показателем ОЕЛ и значения индекса-3 с показателем ПОС.

Следует отметить, что основное количество корреляционных связей наблюдается у индекса-1.

Наиболее представленными оказались отрицательные корреляционные связи с Raw. Оценка бронхиальной проходимости с помощью Raw является, как известно, более точной и специфичной характеристикой состояния бронхов, включающей помимо бронхоспазма и гиперсекрецию, отек слизистой.

Таким образом, можно предположить, что сдвиг баланса адипокиновой сигнализации сопровождается благоприятным действием на процессы, определяющие в патогенезе БА бронхиальное сопротивление (отек слизистой, гиперсекреция, бронхоспазм), при этом более значимая роль принадлежит апелину, нежели адипонектину в этом процессе.

Обнаружены положительные корреляционные связи индекса-1 и индекса-3 с показателями красной крови и уровнем насыщения кислородом, отражающие, скорее всего, именно динамику апелина, наблюдаемую нами ранее. Однако имеется отрицательная корреляционная связь значения индекса-1 с уровнем эритроцитов в периферической крови.

В разных группах можно наблюдать обратные корреляции индекса-2 с содержанием нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов, базофилов и эозинофилов в периферической крови. Возможно, что за этим фактом кроется проапоптотическое действие адипонектина в отношении клеток воспаления [109].

Наблюдаются отрицательные корреляции значения индекса-3 с уровнем нейтрофилов в периферической крови и значения индекса-2 с уровнем лейкоцитов, базофилов и нейтрофилов в периферической крови. А также положительные корреляционные связи индекса-1 с уровнем лимфоцитов и эозинофилов периферической крови. Значение индекса-2 и индекса-3 положительно коррелирует с уровнем нейтрофилов в мокроте.

Отмечается отрицательная корреляция индекса-1 и индекса-3 с СОЭ, т.е. возрастание СОЭ связано со сдвигом баланса в сторону лептина и резистина - провоспалительных адипокинов.

Наблюдаются сильные отрицательные корреляционные связи всех индексов с уровнем IL-10 в плазме крови, т.е. увеличение уровня IL-10, известного противовоспалительной активностью, связано со сдвигом в сторону апелина и адипонектина.

Анализ интегральных индексов позволяет нам предположить наличие сдвига в адипокиновых сигнальных системах (в большей степени связанных с апелином) в зависимости от наличия у больных БА в фазе обострения мокроты и бактериального компонента.

Мы предполагаем возможное влияние адипокиновых систем, и в частности апелина, на слизистый и отечный компонент бронхообструкции.

Схожесть многих корреляционных связей и изменений индекса-1, индекса-3 и индекса-2, позволяет предположить, что апелин, также, как и адипонектин, оказывает преимущественно противовоспалительное действие у больных БА.

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

В последнее время увеличивается интерес к влиянию различных адипокинов на течение бронхиальной астмы. Пристальное внимание уделяется таким адипокинам, как лептин, адипонектин, резистин, TNF- α . Обсуждался дисбаланс провоспалительных и противовоспалительных адипокинов у лиц, страдающих бронхиальной астмой [2].

Интерес к изучению апелинергической системы и её роли в патогенезе бронхиальной астмы связан с рядом факторов.

Функция апелина в бронхолегочной системе и его участие в патогенезе БА практически не изучены, а имеющиеся общие данные литературы об этом адипокине, несмотря на многочисленные исследования, противоречивы.

В связи с несколькими имеющимися активными изоформами апелина было решено оценить уровни изоформ (способных связывать и активировать рецептор) апелина с наибольшей длиной аминокислотной цепочки, состоящей из 36 аминокислот (A36), и наименьшей – из 12 аминокислот (A12).

Оценка уровней A12 и A36 проводилась в плазме, а также, впервые, в мокроте больных бронхиальной астмой (оценка в органе-мишени).

Рецепторный компонент исследовался на лимфоцитах периферической крови, как на клетках, несущих рецептор APJ, и имеющих большое значение в патогенезе бронхиальной астмы.

Нами сопоставлялись уровни A12 и A36 и других адипокинов: лептина, адипонектина, резистина, TNF- α , а также таких важных в патогенезе БА цитокинов, как IL-10 и IL-4.

Часто исследователи при определении уровня апелина не разделяют его по изоформам, оценивая общий уровень. Мы предположили, что этот подход не совсем верен. Так, определение A12 и A36 при сахарном диабете показывает разнонаправленные результаты. Отмечают повышение уровня A36 в плазме крови у пациентов с сахарным диабетом 2 типа [46], а в другом исследовании

наблюдалось снижение уровня A12 в плазме крови [43]. В нашем исследовании также наблюдаются различные изменения уровней форм апеллина.

Было выявлено повышение уровня A12 в плазме крови у больных бронхиальной астмой, как в фазе ремиссии, так и в фазе обострения, причем в фазе обострения наблюдался наиболее высокий уровень. При оценке A12 в фазе затихающего обострения выявлено снижение уровня A12 по сравнению с фазой обострения. Достоверных различий уровней A12 по клинико-патогенетическим вариантам не наблюдалось.

Полученные нами данные согласуются с имеющимися в литературе, когда уровень A12 определяли у детей, страдающих АБА в фазе ремиссии [87]. Повышение A12 в плазме или сыворотке крови наблюдается и при других патологических состояниях: сердечная недостаточность и нарушение функции левого желудочка [30], хронический вирусный гепатит С [40], атопический дерматит [88].

В то же время нами отмечается снижение уровня A36 в плазме крови у больных бронхиальной астмой, наиболее выраженное при НАБА. Однако индекс соотношения A12/A36 в плазме крови был выше у больных БА как в группе НАБА, так и в группе АБА.

Повышение соотношения A12/A36 наблюдалось у больных БА с наличием секрета мокроты в сравнении с больными БА без секретацией мокроты и ПЗЛ.

Таким образом, можно предположить, что соотношение A12 и A36 в плазме крови меняется у больных БА в фазе обострения в сторону повышения A12 и снижения A36 независимо от варианта БА, однако при наличии бронхитического компонента в фазе обострения эти изменения более значимы.

Goetze J.P. et. al. [50] показали снижение A36 у больных хроническими паренхиматозными заболеваниями легких (включая ХОБЛ, фиброз и эмфизему легких) при отсутствии у них сердечной патологии. Также в этом исследовании отмечали снижение уровня A36 у пациентов с легочной гипертензией и сердечной недостаточностью.

При разделении больных БА на пациентов с выраженным бронхитическим компонентом, отмечающих выделение мокроты, и на пациентов без выделения мокроты выраженное снижение уровня АЗ6 наблюдается у пациентов с выделением мокроты. При этом в группе пациентов с положительным бактериологическим посевом мокроты (преобладание условно-патогенной микрофлоры) наблюдалось наиболее выраженное снижение уровня АЗ6 в плазме крови.

При оценке уровня АЗ6 в мокроте видно, что в группе НАБА он ниже, чем при АБА, при этом у больных БА с положительным бактериологическим посевом мокроты уровень АЗ6 был ниже, чем у больных с отрицательным результатом бактериологического посева мокроты, хотя значимость различий и не достигал уровня достоверности. В пользу предположения о важности влияния на уровень АЗ6 в плазме крови инфекционной составляющей говорит отрицательная корреляция АЗ6 в фазе затихающего обострения с получением больными антибактериальной терапии в группе АБА, то есть среди пациентов, страдающих АБА в фазе затихающего обострения более низкий уровень АЗ6 в плазме крови был связан с получением антибактериальной терапии.

Интересной также представляется отрицательная корреляция уровня АЗ6 в мокроте с количеством нейтрофилов в мокроте и индекса-3 с СОЭ.

Связь апеллина с инфекцией рассматривается многими авторами.

Так, при оценке уровня АЗ6 при модели сепсиса у крыс отмечалось снижение АЗ6 в плазме крови и кардиальной ткани [103], в другом исследовании модели ожогового сепсиса у мышей отмечалось снижение апеллина в плазме крови и ткани селезенки [83]. При оценке влияния апеллинов на блокирование ВИЧ-инфекции обнаружена различная сила действия его изоформ. Так, наиболее сильному блокированию ВИЧ-инфекции способствовал АЗ6, а наиболее слабому – А12 [135]. Это может быть связано с различной силой связывания и интернализации рецептора разными видами апеллина.

Наиболее длительную интернализацию вызывает A36, а поскольку APJ-рецептор рассматривался как ко-рецептор для проникновения ВИЧ в клетку, именно эта особенность могла сказаться на силе блокирования вируса A36.

В тоже время, оценка подавления гликолиза в макрофагах и лимфоцитах различными изоформами апелина показала обратную зависимость, т.е. наиболее выраженный результат проявили A12 и A13 [52, 135].

Как известно, гликолиз повышается в иммунных клетках при контакте с антигеном. Макрофаги вырабатывают с его помощью энергию для фагоцитоза и хемотаксиса. Вышеописанное влияние апелина на этот процесс может быть вовлечено в снижение фагоцитарной и хемотаксисной активности макрофагов при их инкубации с пирA13 [63].

Апелин ингибировал в культуре макрофагов продукцию MCP-1, являющегося хемоаттрактантом [103]. Также имеются данные об угнетении апелином как макрофагальной, так и нейтрофильной инфильтрации [76, 83].

При различных моделях легочного повреждения разные авторы отмечали положительное действие апелина: A13 снижал экспрессию ICAM-1 и VCAM-1, нейтрофильную инфильтрацию в легочной ткани при сепсисе [83]; при воздействии апелина отмечалось снижение миграции нейтрофилов и макрофагов, уменьшение толщины альвеолярной перегородки, восстановление капиллярно-альвеолярной проницаемости и уменьшение внесосудистого отложения фибрина при воспалении в легких у новорожденных крыс с индуцированной бронхолегочной дисплазией [38].

При остром респираторном дистресс-синдроме у крыс наблюдалось повышение A12, A13 и A36 в плазме, легочной ткани и бронхоальвеолярном лаваже, ингибирование апелин/APJ системы вызывало более выраженные воспалительные изменения в легких, а введение A13 улучшало гистологическую картину [44].

Можно предположить, что снижение уровня A36 в мокроте и плазме отражает уменьшение его защитной функции на фоне развития обострения бронхиальной астмы и присоединения инфекционного компонента.

Izgüt-Uysal V.N. et. al. [63] предположили, что апелин способен снижать дифференцировку макрофагов в M1 фенотип. У больных бронхиальной астмой в фазе ремиссии отмечается преобладание M2 фенотипа в бронхоальвеолярном лаваже, а при присоединении ГЭРБ происходит смена фенотипа в M1, причем авторы связывают эти изменения с закислением среды при забросе кислого содержимого желудка [3].

Возможно, повышение уровня A12 в некоторой степени оказывает влияние на изменение соотношения фенотипов макрофагов при БА.

Мы наблюдали наиболее низкий уровень A12 в плазме крови и в мокроте у больных бронхиальной астмой и ГЭРБ в отличие от пациентов, страдающих только БА. При этом соотношение A12 (в плазме крови)/A12 (в мокроте) было выше в группе больных БА в сочетании с ГЭРБ, хотя различия и не достигали уровня достоверности.

Таким образом, можно предположить, что у пациентов с БА и ГЭРБ наблюдается более выраженное снижение A12 именно в мокроте. По-видимому, A12 может принимать участие в изменениях фенотипов макрофагов при БА и БА в сочетании с ГЭРБ.

Как известно, одним из составляющих патологического процесса в легких при БА является гиперсекреция слизи. В свете этого интересной представляется положительная корреляционная связь уровня A12 в плазме крови с количеством бокаловидного эпителия в мокроте.

В литературе нами не было найдено данных о функции апелин\APJ системы в отношении бокаловидных клеток бронхов, однако в бокаловидных клетках кишечника найдена экспрессия APJ [124] и показано негативное влияние A13 на продукцию муцина этими клетками [125].

Мы можем предположить, основываясь на известных положительных эффектах апелина при различных моделях легочного повреждения и связи апелина с бокаловидными клетками, что A12 играет роль в регуляции секреции слизи в бронхах. Косвенно на это указывают и многочисленные корреляционные связи индекса-1 с показателем бронхиального сопротивления.

Нами в начале исследования было выдвинуто предположение об участии апелинергической системы в патогенезе бронхообструкции при БА. Это было основано на данных об экспрессии апелина и его рецептора в различных клетках легких и данных, о бронходилатирующем действии апелина на примере животных моделей, а также на данных о принадлежности к одному классу APJ-рецептора и адренергических рецепторов: они являются семидоменными трансмембранными рецепторами, связанными с G-белком. Эта общность определяет и общие пути передачи сигнала внутрь клетки.

Одним из таких общих внутриклеточных мессенджеров является циклический аденозинмонофосфат (цАМФ), вовлеченный в процесс бронходилатации. Однако, по данным литературы, APJ-рецептор активирует G_i и G_q белки, относящиеся к ингибирующим цАМФ [24]. Этот факт согласуется с данными литературы о вазоконстрикторном действии апелина при воздействии на гладкомышечные клетки сосудов.

Таким образом, мы не можем объяснить бронходилатационный эффект апелина расслаблением гладкомышечных клеток бронхов по аналогии с β_2 -адренорецепторами. Как было показано, за бронходилатирующее действие апелина, наблюдаемое на моделях животных, отвечает NO-механизм [51].

Как известно, уровень NO в выдыхаемом воздухе увеличивается при обострении БА, что связывают с патологическим уровнем NO, вовлеченным в поддержание воспалительного процесса в бронхах. При анализе отношения содержания нейтрофилов и эозинофилов в мокроте более высокие значения NO в выдыхаемом воздухе наблюдались при сдвиге клеточного состава мокроты в сторону эозинофилов [8].

Однако мы обнаружили отрицательные корреляционные связи уровня A12 в плазме крови и в мокроте с количеством эозинофилов в мокроте. Это может быть отражением негативной регуляции апелином хемотаксиса клеток воспаления, обсуждаемой ранее.

При анализе корреляционных связей апелинов с показателями ФВД обнаружена сложная система взаимодействий, наиболее выраженная при анализе уровней апелинов в мокроте.

Наблюдается отрицательная корреляционная связь уровня A12 в плазме крови с ООЛ и положительная со статическими объемами и скоростными показателями ФВД, однако отмечается отрицательная корреляция с ФЖЕЛ после ингаляции β 2-адреномиметика.

В мокроте наблюдалась противоположная картина: положительная корреляционная связь с ООЛ, ФЖЕЛ после ингаляции β 2-адреномиметика и отрицательная корреляционная связь с объемными и скоростными показателями, хотя количество связей было невелико.

Наблюдались положительные корреляционные связи уровня A36 в плазме со статическими объемами и скоростными показателями спирометрии, но не плетизмографии, а также положительная корреляционная связь с показателем бронхиального сопротивления.

Однако при выделении групп с бактериальным компонентом в мокроте и без него отмечается инверсия характера связи. Так, в группе больных БА с положительным посевом мокроты наблюдаются отрицательные корреляционные связи со скоростными и объемными показателями ФВД, а также положительная корреляционная связь с показателем бронхиального сопротивления, хотя и не достигающая уровня достоверности.

С другой стороны, в группе больных БА с отрицательным результатом посева мокроты наблюдается положительная корреляция с ОФВ1 и отрицательная с Raw.

Корреляционные связи уровня A36 в мокроте с показателями ФВД носили различный характер в зависимости от варианта БА.

При АБА наблюдались отрицательные корреляционные связи A36 со скоростными показателями спирометрии и плетизмографии, и положительная корреляционная связь с величиной прироста ОВФ1 после ингаляции

$\beta 2$ -адреномиметика, а также положительные, но не достигавшие уровня достоверности - с Raw.

В группе больных НАБА наблюдались положительные корреляционные связи уровня А36 в мокроте со скоростными показателями спирометрии и отрицательная корреляционная связь с Raw. Вышеописанные корреляционные связи объединены в таблице 4.1.

Таблица 4.1 - Направленность корреляционных связей уровней апелина-12 и апелина-36 в плазме крови и в мокроте и показателей функции внешнего дыхания

показатели	плазма		мокрота	
АПЕЛИН-12				
ООЛ	-		+	
Объемные и скоростные показатели спирометрии	+		-	
АПЕЛИН-36				
	(+) посев мокроты	(-) посев мокроты	НАБА	АБА
Объемные и скоростные показатели спирометрии	-	+	+	-
Raw	+	-	-	+

Таким образом, видно, что корреляционные связи уровней апелинов в мокроте и в плазме крови разнонаправлены.

Обструктивный тип ФВД связан с более низким уровнем А12 в плазме крови и с более высоким - в мокроте.

Корреляционные связи уровней А36 с показателями ФВД наблюдались только у больных с секрецией мокроты. При этом повышение уровня А36 в плазме крови (при положительном посеве мокроты) связано с обструктивными изменениями показателей ФВД, а в мокроте уровень А36 положительно

коррелирует с показателями проходимости бронхов у больных с неаллергическим вариантом БА.

Наоборот, - снижение уровня АЗ6 в плазме крови (у больных с отрицательным посевом мокроты) и повышение его в мокроте (у больных с аллергическим вариантом заболевания) было связано с развитием обструктивных изменений ФВД.

При анализе результатов не было найдено связи уровней апеллинов в плазме крови и мокроте.

Однако это может быть связано не с отсутствием элиминации плазматического апеллина через легкие, а с выработкой апеллинов паракринным путем в бронхах. Важность паракринной функции апеллинов, не связанной с эндокринной, сейчас рассматривается и для других тканей [20].

Анализ интегральных индекса-1 и индекса-3 показал отрицательные корреляционные связи значений индексов и показателя бронхиального сопротивления и положительные корреляционные связи со скоростными показателями спирометрии и плетизмографии почти во всех группах больных БА. Отрицательные связи индексов и статических объемов, скоростных показателей спирометрии наблюдаются только в группе больных БА с секрецией мокроты.

Ранее мы предполагали, что повышение А12 в мокроте при обструктивных изменениях носит протективный характер за счет влияния на секрецию NO. По данным литературы известно, что основное влияние апеллин оказывает через конститутивную NOS [51], производящей NO в требуемых физиологических количествах и отвечающей за поддержание тканевого равновесия [21]. За патологический же уровень NO при воспалительном процессе отвечает, в основном, индуцибельная NOS, на которую влияние апеллина крайне незначительно.

Предположительное вовлечение АЗ6 в развитие бактериального компонента может быть объяснено инверсией характера связи у больных с инфекционным компонентом. Т.е. у таких больных протективное влияние АЗ6, а, возможно, и А12, менее выражено на фоне этого могут развиваться бронхитически-

обструктивные изменения, на что косвенно указывает снижение уровня NO в выдыхаемом воздухе у больных БА с секрецией мокроты по сравнению с больными БА без секреции мокроты [8].

Однако связь интегральных индекса-1 и индекса-3 и A36 с показателями бронхиального сопротивления, а также уровня A12 с количеством бокаловидных клеток позволяет предположить, что основными точками приложения действия апелинов могут являться гиперсекреция слизи и отек слизистой.

Некоторые изменения корреляционных связей апелинов после ингаляции β 2-адреномиметика могут быть связаны с воздействием на β 2-адренорецептор. Как известно, APJ-рецептор находится в постоянных взаимодействиях с другими рецепторами на мембране и способен при гетеродимерных ассоциациях изменять сигнальную трансдукцию [24, 79] (известный для многих рецепторов cross-talk-эффект). Например, положительная корреляционная связь A36 в мокроте с величиной прироста ОФВ1 после ингаляции β 2-адреномиметика может характеризовать положительное взаимодействие APJ-рецептора и β 2-адренорецептора с инициацией проведения сигнала через Gs-белок и, соответственно, улучшения эффекта адреномиметика.

Нами были проанализированы корреляционные связи уровней A12 и A36 с уровнями различных цитокинов. Выявлена отрицательная корреляционная связь уровня A12 в плазме крови с уровнем IL-10 в плазме крови преимущественно у больных НАБА, однако, после лечения, в фазе затихающего обострения, характер данной связи меняется на положительный.

Между уровнем A36 и уровнем IL-10 в фазе затихающего обострения у больных БА корреляционная связь была отрицательная. Наблюдалась положительная корреляционная связь уровня A12 в плазме крови с уровнем TNF- α в плазме крови у больных НАБА.

Интересной представляется инверсия корреляционной связи уровня A12 с уровнем IL-4 в плазме крови: положительная - при АБА и отрицательная - при НАБА. При этом корреляционная связь уровня A36 с уровнем IL-4 в плазме крови является положительной. Характеристика связей представлена в таблице № 4.2.

Таблица 4.2 - Сводная таблица связей апеллина-12 и апеллина-36 с различными цитокинами в плазме крови

цитокины	Апелин-12		Апелин-36	
	Фаза обострения БА	Фаза затихающего обострения БА	Фаза обострения БА	Фаза затихающего обострения БА
IL-10	-	+	- (не достигает уровня достоверности)	-
IL-4	+ при АБА - при НАБА	- при НАБА	+	+ (не достигает уровня достоверности)
TNF- α	+	- (не достигает уровня достоверности)	- (не достигает уровня достоверности)	- (не достигает уровня достоверности)

Таким образом, видно, что инверсия характера связи в зависимости от фазы заболевания наблюдается только у A12 в отношении IL-10 и TNF- α .

В литературе нет однозначного мнения о влиянии апеллина на продукцию цитокинов.

Так, многими авторами описывается ингибирующее действия апеллина на провоспалительные цитокины: A36 и A13 негативно влияли на экспрессию INF- γ , IL-6 и IL-4 в клетках селезенки [52], A13 снижал уровень IL-1 β , IL-6, TNF- α и IL-8 в плазме крови [83, 103], в ответ на введение A13 наблюдалось снижение экспрессии TNF- α и IL-1 β у животных [42, 130], снижение продукции макрофагами TNF- α и IL-8 при их инкубации с пирA13 и ингибирование экспрессии IL-6 при обработке макрофагов липополисахаридом с пирA13 [99].

В то же время, имеются данные о стимулирующем влиянии A13 на экспрессию TNF- α и IL-1 β и ингибирующем на экспрессию IL-10 в клетках

микроглии [29], однако в других исследованиях не было обнаружено влияния пирА13 на экспрессию IL-10 в клеточной культуре [99] или отмечалось повышение IL-10 в сыворотке крови на фоне введения А13 [42].

Апелин стимулировал повышение уровня мРНК IL-1 β в хондроцитах [60]. Однако отметим, что данные о негативной регуляции апелином экспрессии провоспалительных цитокинов преобладают.

С другой стороны, IL-6 и TNF- α повышали экспрессию апелина в клетках кишечника крыс [57]. TNF- α также оказывал стимулирующее влияние на уровень апелина в культуре дифференцированных адипоцитов и повышал уровень апелина в плазме крови при интраперитонеальном введении [35].

Схематичное изображение взаимовлияния цитокинов и апелина представлено нами на рисунке 1.

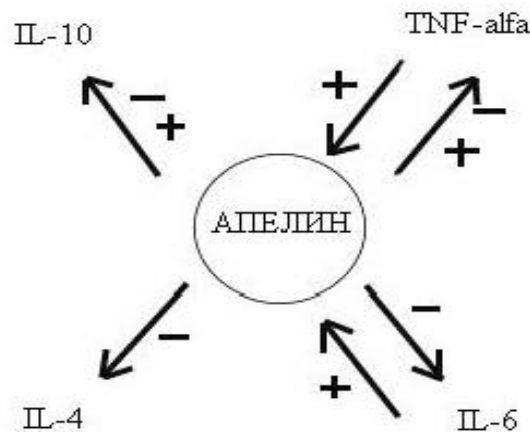


Рисунок 1 - Взаимовлияние апелина и цитокинов по данным анализа литературы. «+» - повышение уровня; «-» - понижение уровня.

Fan X.F. et al. [44] выдвинули предположение об органозависимой роли апелин/APJ-системы при тканевом повреждении. Исходя из этого, по данным литературы можно говорить об ингибирующей роли апелина на экспрессию провоспалительных цитокинов при воспалительном процессе в бронхолегочной системе.

Однако нами не были получены достоверные корреляционные связи уровней цитокинов и апелинов в плазме крови у ПЗЛ, что может указывать на активацию их взаимовлияния только при развитии патологического состояния. Также не наблюдалось корреляционных связей уровней изучаемых цитокинов и уровней A12 и A36 в мокроте. Последнее, возможно, связано с местным действием ИКС как на уровни апелинов, так и на уровни цитокинов, которое уменьшает их взаимосвязи.

Как известно, при обострении БА наблюдается снижение уровня IL-10 [1], что подтверждается и нашими наблюдениями. На фоне терапии наблюдается повышение уровня IL-10 в плазме крови.

Можно предположить, что наблюдаемые нами корреляции уровней IL-10 и A12, а также известные данные литературы, по-видимому, являются опосредованными.

Однако наблюдаемая нами отрицательная корреляционная связь интегральных индекса-1, индекса-2 и индекса-3 с уровнем IL-10 в плазме крови позволяет предположить наличие у апелина противовоспалительной активности, подобно таковой у адипонектина. Повышение уровня IL-10 связано со снижением провоспалительных адипокинов (лептин и резистин) и повышением противовоспалительных (адипонектин и апелин). Кроме этого, нельзя исключить мысль о том, что повышение A12 в фазу обострения является компенсаторным на фоне снижения IL-10.

При бронхиальной астме наблюдается повышение IL-4 [1], в нашем исследовании мы также наблюдали тенденцию к данному повышению. Данных о влиянии апелина на экспрессию IL-4 в литературе очень мало, а информации об обратном влиянии нами не было найдено.

Однако полученные нами корреляции позволяют предположить сложные взаимодействия между A12, A36 и IL-4. Причем связь A12 и IL-4 будет зависеть от варианта БА. Различный характер корреляций A12 с IL-4 может быть связан с вовлечением Jak/Stat пути передачи сигнала.

Han S. et al. [57] продемонстрировали повышение экспрессии апелина на фоне воспалительного процесса при блокаде Jak/Stat пути в кишечнике крыс. При этом у больных БА IL-4 повышает активность Stat6 в лимфоцитах периферической крови, преимущественно, при аллергическом варианте заболевания [5]. Известно также и о повышении активности Stat3 у больных АБА [2].

Возможно, активация Jak/Stat пути, связанная с IL-4 у больных АБА, отображается в положительной корреляционной связи уровней IL-4 и A12 в плазме крови у больных АБА и негативной у больных НАБА.

В то же время A12 может оказывать ингибирующее действие на уровень IL-4 в большей степени при АБА, что может отражаться в более низком уровне IL-4 у больных АБА в сравнении с НАБА.

Наиболее доказанной представляется взаимосвязь уровней TNF- α и апелина. При обострении бронхиальной астмы ожидается повышение уровня TNF- α , которое может оказывать стимулирующее влияние на экспрессию апелина, а апелин, в свою очередь, ингибирующее действие по типу обратной связи.

При анализе уровней A12 и других адипокинов в плазме крови не наблюдается корреляционных связей с уровнями лептина и адипонектина, однако схожесть корреляционных связей индекса-1 и индекса-2 позволяют предположить одинаковый с адипонектином характер действия A12, т.е., противовоспалительный.

Однако следует заметить, что цитокины, и адипокины в частности, обычно обладают как противо- так и провоспалительными свойствами. Это обсуждается N.G.Verbout et al. [123], которые указывают на то, что адипонектин способен проявлять и провоспалительную активность.

В связи с этим оценка про- или противовоспалительной роли должна производиться отдельно для конкретной патологии и ткани. При БА адипонектин расценивается как противовоспалительный адипокин [114].

С уровнем резистина наблюдается обратная корреляционная связь A12 в плазме крови в фазе обострения, характер связи меняется в фазе затихающего обострения. По данным литературы у здоровых детей наблюдалась положительная корреляционная связь уровней резистина с A12 в плазме крови [88]. В нашем исследовании у ПЗЛ также наблюдался положительный характер связи, хотя и не достигающий уровня достоверности.

Как известно, резистин влияет на чувствительность к инсулину: для гепатоцитов – повышает, для других тканей – понижает, т.е. происходит усиление синтеза глюкозы без адекватного захвата и утилизации ее на периферии. В результате может развиваться инсулинорезистентность [7].

Апелин, по данным литературы, относится к инсулиномиметикам. Он способен улучшать чувствительность к инсулину, а также снижать продукцию инсулина в островных клетках поджелудочной железы [25]. Подобные противоречивые действия наблюдались и в других системах и тканях. Так, резистин способствует развитию гипертрофии миокарда, а апелин подавляет этот процесс [82].

Разнонаправленность действия этих адипокинов может быть причиной наблюдаемой отрицательной корреляционной связи. В фазе затихающего обострения снижение активности адипокинов на фоне терапии ГКС, возможно, приводит к изменению характера связи.

Ранее в предыдущих работах [4] мы рассматривали особенности связи уровня резистина плазмы крови с инфекционным процессом и, в частности, положительную корреляционную связь уровня резистина с нейтрофилами периферической крови и наличием антибактериальной терапии.

Для плазматического A12 мы наблюдали отрицательную корреляционную связь с лейкоцитами и нейтрофилами периферической крови, а при анализе плазматического A36 – отрицательную корреляцию с антибактериальной терапией.

Возможно, апелин и резистин являются антагонистами в процессе формирования воспалительного процесса при БА.

Кроме того, имеются предпосылки предполагать вовлечение резистина (как гиперкоагулянта) и апеллина (как гипокоагулянта) в гемореологические нарушения при БА.

Как известно, при бронхиальной астме наблюдаются гемореологические нарушения в виде гиперкоагуляционных сдвигов. Мы наблюдали положительную корреляционную связь уровня А36 в плазме с ПВ и обратную с ПИ. Уровень А12 в плазме крови, напротив, отрицательно коррелировал с ПВ, однако наблюдалась положительная корреляция с АПТВ. Рецептор APJ имел обратную корреляционную связь с ПВ и положительную с ПИ.

Первый процесс свертывания крови (образование протромбиназы) может проходить двумя путями: внешним и внутренним. АПТВ характеризует внутренний механизм образования протромбиназы, а ПВ и соответственно ПИ – внешний механизм.

Вышеописанные корреляционные связи позволяют предположить, что А12 положительно коррелирует с активацией внешнего пути образования протромбиназы и отрицательно с активацией внутреннего пути.

Уровень А36 в плазме крови имеет отрицательную корреляционную связь с активацией внешнего пути образования протромбиназы.

Уровень рецептора APJ лимфоцитов периферической крови положительно коррелировал с активацией внешнего пути образования протромбиназы, т.е. активация апеллин/APJ системы в лимфоцитах периферической крови связана с гиперкоагуляционными сдвигами.

Подобные сдвиги наблюдаются при многих заболеваниях, связанных с воспалительным процессом. Возможно, связь рецептора с ПИ и ПВ косвенно отображает активацию апеллин/APJ системы лимфоцитов при развитии воспаления.

Необходимо отметить, что не было найдено корреляционных связей апеллинов в мокроте и гемореологических показателей.

Le Gonidec S et. al. [72] обнаружили, что Протамин (коагулянт, антагонист гепарина) способен блокировать APJ-рецептор, отменяя известные эффекты

апелина. Предполагается, что апелин способен ингибировать активацию и агрегацию тромбоцитов и увеличивать время свертываемости [16]. Авторы рассматривают апелин как возможный антикоагулянт.

Учитывая полученные нами данные, можно предположить, что разные изоформы апелина отвечают за различные пути реологических изменений в крови.

Для дополнительной характеристики роли апелин/APJ системы в патогенезе БА нами был проведен эксплораторный факторный анализ.

Факторный анализ представляет собой совокупность методов, которые на основе реально существующих связей анализируемых признаков, связей самих наблюдаемых объектов, позволяют получить простую модель взаимосвязи явлений на более высоком, причинном уровне.

Набор из 3-5 факторов описывает все многообразие имеющихся связей и выделяет наиболее значимые субтипы. При этом первый фактор даёт наиболее существенный вклад в этот процесс, последующие факторы распределены по убыванию своей значимости. Определялась мера выборочной адекватности Кайзера-Мейера-Олкина (КМО), выбор факторов является адекватным при $p < 0,05$.

Числа в столбце под номером фактора (так называемая нагрузка) показывает степень связи данного показателя с фактором: чем меньше абсолютное число, тем слабее связь. Отрицательные значения показывают, что данный показатель изменяется в противофазе с положительными.

При анализе данных для уменьшения числа переменных нами использовались следующие отношения: уровень A12 в плазме крови к уровню A36 в плазме крови, уровень A12 в мокроте к уровню A36 в мокроте, отношение абсолютного количества нейтрофилов к абсолютному количеству эозинофилов по данным клинического анализа крови, относительное количество нейтрофилов в мокроте к относительному количеству эозинофилов в мокроте.

Анализ всех больных бронхиальной астмой представлен в таблице 4.3.

Таблица 4.3 - Факторы в группе всех больных БА в фазе обострения

Показатели	Факторы		
	1 31,67% дисперсии	2 27,66% дисперсии	3 19,49% дисперсии
A12/A36 плазма	-0,452	0,720	-0,122
Raw_0_фак	0,229	-0,560	-0,592
ФЖЕЛ_0_фак	-0,737	0,118	0,521
IL-10 (пг/мл) в плазме крови	-0,108	0,938	-0,053
APJ-рецептор лимфоцитов периферической крови (пг/мл)	-,0120	-,0172	0,883
Суточная доза ИКС относительно эквивалентная будесониду (мкг)	0,885	-0,225	-,0139
Доза парентеральных ГКС в пересчете на преднизолон (мг)	0,681	-0,253	-0,186
Нейтрофилы/Эозинофилы в крови	0,680	0,587	0,292

Примечание: 0 – проба до ингаляции β 2-адреномиметика; КМО $p=0,003$.

Первый фактор характеризуется сдвигом соотношения апелинов в плазме в сторону A36 (возможно преимущественно за счет снижения A12) при состоянии, требующим более высоких доз ГКС на фоне воспалительного процесса и усиления обструктивных нарушений. Данный воспалительный процесс будет характеризоваться отклонением в сторону увеличения количества нейтрофилов в периферической крови. Фактор 1 объясняет 31,67% дисперсии.

Второй фактор связан со сдвигом соотношения апелинов в сторону A12 на фоне более высоких значений IL-10, преобладания нейтрофилов над эозинофилами в крови и уменьшения бронхиального сопротивления. Фактор второй объясняет 27,66% дисперсии.

Третий фактор отображает положительное влияние лимфоцитов, активированных в апелин/APJ системе на состояние бронхиальной проходимости.

Возможно, это происходит за счет влияния на секрецию некоторых медиаторов и хемокинов. Факторы 1, 2 и 3 объясняют 78,82% дисперсии.

При подборе групп больных не наблюдалось целесообразности представлять анализ различных клинико-патогенетических вариантов БА. Анализ группы больных БА без секреции мокроты представлен в таблице 4.4.

Таблица 4.4 - Факторы в группе больных БА без секреции мокроты в фазе обострения

Показатели	Факторы		
	1 35,27% дисперсии	2 22,95% дисперсии	3 19,52% дисперсии
A36 (пг/мл) в плазме крови	0,857	0,100	0,109
A12 (пг/мл) в плазме крови	0,402	0,092	-0,795
ФЖЕЛ_0_фак	0,207	-0,880	0,158
Raw_0_фак	0,714	0,298	-0,177
АПТВ (сек)	0,344	-0,008	0,768
Протромбиновый индекс (%)	0,272	0,631	0,557
IL-10 (пг/мл) в плазме крови	-0,940	0,134	-0,166
Суточная доза ИКС относительно эквивалентная будесониду (мкг)	0,105	0,795	0,462
Лейкоциты периферической крови ($10^9/\text{л}$)	0,294	0,755	-0,189

Примечание: 0 – проба до ингаляции β_2 -адреномиметика; КМО $p=0,003$.

В связи с недостаточным уровнем достоверности выбора переменных при использовании отношения A12/A36 в данном анализе аполины оценивались отдельно.

Первый фактор отмечает повышение аполинов, в большей степени A36, на фоне ухудшения бронхиальной проходимости и снижения IL-10 в плазме. Возможно, это происходит как компенсаторный механизм, т.е. при снижении

IL-10 апелин/APJ система выступает как компенсаторный механизм с противовоспалительными функциями.

Второй фактор не связан с апелинами и показывает связь выраженности воспалительного процесса и дозы ИКС.

Третий фактор отображает угнетающее действие глюкокортикоидов на уровень A12 и их протромботический эффект, возможно, связанный, в том числе, и со снижением уровня апелина.

Анализ группы больных БА с наличием мокроты в фазе обострения представлен в таблице 4.5.

Таблица 4.5 - Факторы в группе больных БА с секрецией мокроты

Показатели	Факторы			
	1 31,86% дисперсии	2 27,65% дисперсии	3 18,58% дисперсии	4 15,25% дисперсии
Нейтрофилы/Эозинофилы в мокроте	0,084	0,858	0,361	0,268
Raw_0_фак	0,064	0,071	0,986	-0,099
Нейтрофилы/Эозинофилы в крови	-0,078	-0,896	0,070	0,183
Суточная доза ИКС относительно, эквивалентная будесониду (мкг)	0,825	0,008	-0,329	-0,366
Реснитчатый эпителий бронхов (%)	-0,068	0,024	-0,067	0,941
A12/A36 плазма	-0,040	0,655	-0,456	0,538
A12/36 мокрота	0,899	-0,098	0,318	0,278
Применение антибактериальной терапии	-0,933	-0,228	-0,078	0,105

Примечание: 0 – проба до ингаляции β2-адреномиметика; КМО p=0,001.

Данная группа больных позволяет оценить связи апелинов в организме.

Первый фактор можно назвать: «воспаление в органе-мишени». Наблюдается отрицательная связь отношения A12/A36 с наличием антибактериальной терапии и положительная с дозой ИКС, получаемой пациентом. Таким образом, сдвиг соотношения в сторону A36 связано с получением пациентом антибактериальной терапии, а большие дозы ИКС со сдвигом соотношения в сторону A12. Фактор 1 объясняет 31,86% дисперсии.

Хочется отметить, что при анализе влияния терапии на уровни апелинов плазмы наблюдались отрицательные корреляционные связи: антибактериальной терапии с уровнем A36 в плазме крови (таблица 3.3.8) и дозы ИКС с уровнем A12 в плазме крови (таблица 3.2.9). Не исключено, что негативная регуляция ИКС на паракринный синтез A12 компенсируется поступлением A12 из системного кровотока.

Второй фактор можно назвать «взаимоотношение клеток воспаления и апелинов плазмы». Видно, что системные и местные клетки воспаления связаны с плазматическими апелинами. Причем, сдвиг воспаления в бронхах в нейтрофильный вариант связан со сдвигом соотношения апелинов плазмы в сторону A12, а при преобладании эозинофильного воспаления соотношение апелинов сдвигается к A36. С клетками периферической крови картина противоположна. Фактор 2 объясняет 27,65% дисперсии.

Третий фактор отталкивается от показателя бронхиального сопротивления и включает переменные, отвечающие за выраженность воспалительного процесса в бронхах, а также апелины плазмы крови и мокроты. Его можно назвать фактором, связанным с бронхообструкцией. Таким образом, сдвиг воспаления в бронхах в сторону нейтрофильного варианта связан с увеличением бронхиального сопротивления, вероятно, в большей степени за счет слизистого и отека компонента, а высокие дозы ИКС обеспечивают уменьшение выраженности этого процесса.

В тоже время, этот процесс связан со сдвигом соотношений апелинов в сторону A12 мокроты и A36 в плазме крови. Фактор 3 объясняет 18,58% дисперсии и совместно с 1 и 2 факторами составляет 78,09% дисперсии.

Четвертый фактор показывает положительное влияние ИКС на изменения в бронхах, наблюдаемые при БА, и, в частности, на шеддинг эпителия. Этот процесс сопряжен со сдвигом соотношения плазматических апелинов в сторону A12.

Ранее мы наблюдали положительную корреляционную связь A12 с количеством бокаловидного эпителия в мокроте (таблица 3.1.7). Здесь мы видим сдвиг соотношения апелинов в сторону A12 при увеличении количества реснитчатого эпителия в мокроте. Шеддингом бронхиального эпителия характеризуется в основном аллергический вариант БА.

Нами наблюдалась положительная корреляционная связь A12 с наследственной предрасположенностью к аллергическим заболеваниям и наличием обострения или персистирующей формы аллергического ринита.

В последнее время многими авторами проводятся поиски возможной специализации различных форм апелинов. Так, Е. Б. Шустов, С.И. Оковитый [14] предположили, что с точки зрения роли апелинов в работе сердечно-сосудистой системы A12 наиболее активен в оптимизации гликолитического и энергопродуцирующего механизмов в миокарде, а A13 обладает самым мощным инотропным эффектом.

С нашей точки зрения на основании полученных результатов, можно предположить, что A12 более вовлечен в патогенетические процессы при АБА, а A36 - при НАБА.

При обобщении полученных нами результатов видно, что апелины плазмы и мокроты находятся в противоположных отношениях со многими показателями. При этом изменения уровней A12 и A36 также противоречивы. J.P. Goetze et al. [50] уже высказывали предположение, что легкие могут вносить вклад в системный уровень A36, а также о возможной органозависимой роли различных видов апелинов [44].

Можно предположить, что паракринные уровни апелинов в легких находится в некоторой не прямой зависимости от плазматических уровней.

Так, A12 поступает из плазмы в легкие при необходимости, а A36 из легочной ткани в системный кровоток. На фоне обострения БА A36 в легких расходуется в основном паракринным путем и его поступление в системный кровоток снижается, и, соответственно, происходит понижение его плазматического уровня, при этом на фоне уменьшения синтеза A36 в легких потенцируется развитие воспалительного процесса и присоединение инфекции.

Можно предположить, что для восстановления плазматического уровня апелина, а, возможно, и как ответ на обострение заболевания, усиливается синтез A12. Уровень A12 повышается в плазме крови и поступает в органы и ткани, в том числе и в легкие, дополняя паракринный синтез.

Однако различия в анализе уровней апелинов и их корреляционных связей (по данным литературы), а также полученные нами данные позволяют предположить различные эффекты активации рецептора разными изоформами апелина.

Интересна связь апелинов с показателями КОС. Наблюдалась отрицательная корреляционная связь плазматического A12 и A36 с рН капиллярной крови, A36 в плазме крови - со значением PaO_2 в капиллярной крови. Иными словами, на фоне развития респираторного ацидоза можно ожидать повышения апелинов в плазме крови. Вероятно, данная связь характеризует известное положительное влияние гипоксии на экспрессию апелина.

Известно, что гипоксическое состояние стимулирует синтез апелина, посредством гипоксия-индуцибельного фактора (HIF), в частности HIF-1 α . Предполагают [53], что повышение апелина вовлечено в адаптивный физиологический или патофизиологический ответ при гипоксии. Одним из механизмов адаптации рассматривается его ангиогенная активность. Авторами отмечалось, что некоторые воздействия апелина наблюдались только при гипоксическом состоянии, и отсутствовали при нормоксии.

Так, D.E. Henley et al. [54] предположили, что снижение уровня плазматического апелина у больных обструктивным сонным апное на фоне CPAP-терапии связано с изменением оксигенации крови. При легочной

гипертензии роль апелин/APJ системы рассматривают как протективную, предполагая, что её основные эффекты при этом связаны с вазодилатацией, снижением оксидативного стресса, уменьшением ремоделирования пульмональных артерий [53].

У больных легочной гипертензией отмечалось снижение A12 в сыворотки крови [27], что может быть проявлением компенсаторных нарушений, приводящих к развитию патологии.

Изменение уровня апелина при различной степени тяжести патологии наблюдается при сердечной недостаточности [30]. Это также может быть связано с истощением компенсирующего действия апелин/APJ системы.

Мы наблюдали более низкие значения плазматического A36 у больных БА тяжелого течения и тенденцию к снижению A12 у этих больных. Не исключено, что это может быть одной из причин более тяжелого течения заболевания.

Уровень APJ-рецептора лимфоцитов периферической крови прямо коррелировал с величиной PaO_2 . Т.е. повышение активности апелин/APJ системы в лимфоцитах возникало на фоне повышения уровня PaO_2 . Плазматические апелины имели положительную корреляцию с количеством лимфоцитов: A12 с количеством лимфоцитов в периферической крови, а A36 – в мокроте.

Известно, что апелины оказывают ингибирующее влияние на биологическую активность лимфоцитов, причем выраженность этого влияния обратно пропорциональна длине аминокислотной цепи [135]; A13 ингибировал холинергическую активность лимфоцитов [59].

Мы наблюдали снижение количества APJ-рецепторов лимфоцитов в фазе ремиссии БА, а также негативную связь ГКС с их уровнем. У больных БА в фазе обострения, не получающих базисной ИКС-терапии, наблюдалась тенденция к более высоким значениям уровня APJ-рецептора, чем у больных БА в фазе обострения на фоне базисной ИКС-терапии.

Известно, что ГКС оказывают негативную регуляцию не только на экспрессию апелина, но и на экспрессию его рецептора [100, 103]. Возможно, гормональная терапия больных БА оказывает подавляющее действие на

экспрессию APJ-рецептора лимфоцитов, однако, усиление воспалительного процесса при обострении БА требует более активной работы апелин/APJ системы в лимфоцитах в рамках подавления воспалительной активности клеток.

Кроме того, известно об антиапоптотическом влиянии апелина на гладкомышечные клетки, кардиомиоциты и остеобласты [34, 129, 134]. Одним из возможных механизмов этого эффекта может быть негативное влияние апелина на активность каспазы-3 [31, 42].

Следует отметить, что снижение интенсивности апоптоза лимфоцитов также ассоциировано со снижением активности каспазы-3 [97]. Возможно, что антиапоптотический эффект апелина распространяется и на лимфоциты. Не исключено, что снижение проапоптотической активности [11] ГКС в лимфоцитах в фазе обострения БА связано с активацией апелин/APJ системы.

Неоднозначны корреляционные связи апелинов с показателями красной крови. A12 в группе АБА имеет обратную корреляцию с цветовым показателем, средним содержанием гемоглобина в эритроците и объемом эритроцита.

В группе НАБА A12 положительно коррелирует с цветовым показателем, средним содержанием гемоглобина в эритроците и объемом эритроцита, но отрицательно с количеством эритроцитов. A36 имеет положительную корреляционную связь со средним содержанием гемоглобина в эритроците в группе НАБА.

Индекс-1 в группах АБА (положительная) и НАБА (отрицательная) также имел противоположный характер связи с количеством эритроцитов периферической крови.

Следует заметить, что хроническая гипоксия может приводить к увеличению количества эритроцитов в качестве компенсаторного ответа. Однако имеются и другие точки взаимодействия апелин/APJ системы и эритропоэза.

В недавней работе Q.C. Yu et al. [131] показана возможность вовлечения апелин/APJ системы в регуляцию гемопоэза и формирование клеток крови из стволовых клеток. Исходя из представленных данных, можно было бы предположить прямую зависимость плазматического апелина и эритроцитов,

однако она нами не наблюдается. Это может быть связано с оценкой системного уровня апелинов.

В вышеуказанной работе исследования проводились на культуре стволовых клеток с использованием A13, что более близко к паракринному воздействию в условиях организма.

Кроме того, наблюдаемые корреляции уровней апелинов в мокроте с цветовым показателем, средним содержанием гемоглобина в эритроците и объемом эритроцита наводят на мысль, что обнаруженные нами связи отображают действие двух компенсаторных систем.

В нашей работе мы не получили достоверных данных о влиянии ИМТ на уровень апелина. В литературе данные о влиянии избыточной массы тела на уровень апелина крайне противоречивы.

Одни авторы не отмечали взаимосвязи ИМТ и уровня апелина [46, 87], другие указывали на увеличение уровня апелина в плазме крови при ожирении [23, 35]. Столь неоднозначные данные литературы заставляют усомниться во влиянии объема жировой ткани на уровень апелина и предположить другую причину для его повышения, связанного с ожирением, например, уровень инсулина. Взаимосвязь метаболизма глюкозы и апелина исследована во многих работах.

Так, показан глюкозопонижающий и инсулинингибирующий эффекты апелина [103], а также стимулирующее действие инсулина на экспрессию апелина в адипоцитах [35]. Поскольку в нашей работе не обследовались больные с сахарным диабетом или имеющие нарушение толерантности к глюкозе нами и не было обнаружено различий уровней A12 и A36 в зависимости от массы тела.

Есть работы, демонстрирующие более высокий уровень апелина плазмы крови у женщин [6, 84], однако, не исключено, что эти данные также связаны с метаболическими нарушениями, так как прослеживаются у больных гипертонической болезнью и у лиц с развившимся в дальнейшем сахарным диабетом 2 типа.

В заключение отметим, что исследованные нами аспекты апелин/APJ системы у больных БА, касающиеся целого ряда характеристик заболевания, вносят вклад в понимание роли этой системы в патогенезе БА. Это позволяет создать научную базу для дальнейших исследований, а в перспективе и для разработки таргетных лекарственных подходов, регулирующих активность этой системы.

ВЫВОДЫ

1. Уровень апелина-12 в плазме крови повышается у больных БА, как при аллергическом, так и неаллергическом вариантах заболевания, а уровень апелина-36 в плазме крови снижается у больных с неаллергическим вариантом заболевания по сравнению с практически здоровыми лицами. У больных БА с выраженным бронхитическим и бактериальным компонентами выявлен наиболее низкий уровень апелина-36 в плазме крови. При этом индекс апелин-12/апелин-36 повышается у больных бронхиальной астмой в сравнении с контрольной группой, отражая разнонаправленный характер их изменений при БА.

2. В мокроте больных БА выявляется как апелин-12, так и апелин-36, уровень которых не зависит от варианта заболевания. При корреляционном анализе не было найдено связи между плазменными уровнями аполинов и их уровнями в мокроте. Наблюдаются отрицательные корреляционные связи уровня апелина-12 с количеством эозинофилов и уровня апелина-36 с количеством нейтрофилов в мокроте. Эти связи отражают, по-видимому, различное участие аполинов в характере воспалительного процесса при различных вариантах БА.

3. Анализ корреляционных связей уровней аполинов в плазме крови и мокроте со скоростными показателями ФВД выявил разнонаправленный характер связей: нарастание уровня апелина-12 в плазме крови соответствовало улучшению, а в мокроте – ухудшению бронхиальной проходимости. Корреляционные связи уровней апелина-36 выявлялись только у больных БА с выраженным бронхитическим компонентом. При этом характер связей зависит от бактериального компонента мокроты и варианта БА. Указанные корреляционные связи могут отражать вовлеченность аполинов в воспалительный процесс в бронхах на уровне паракринной регуляции в системе апелин/APJ при БА.

4. Обнаружена отрицательная корреляционная связь апелина-12 в плазме крови и положительная связь апелина-36 в плазме крови с показателями свертываемости крови, что может указывать на их участие в гемореологических нарушениях при БА.

5. Уровень АРJ-рецептора лимфоцитов периферической крови в фазе обострения бронхиальной астмы существенно не отличается от его уровня в контрольной группе, не зависит от варианта заболевания, однако в фазе ремиссии снижается в сравнении с его уровнем в фазе обострения заболевания. В фазе обострения БА при аллергическом варианте отмечаются положительная корреляция уровня АРJ-рецептора со скоростным показателем функции внешнего дыхания, а при неаллергическом варианте бронхиальной астмы – отрицательная корреляция. Отмечаются отрицательные корреляционные связи уровня АРJ-рецептора в фазе затихающего обострения с дозой глюкокортикостероидов, получаемых пациентами в фазе обострения.

6. Уровень апелина-12 в фазе обострения БА имеет положительную корреляционную связь с уровнем TNF- α , отрицательную – с IL-10 и положительную при аллергической БА – с IL-4, отрицательную – при неаллергической БА. В фазе затихающего обострения БА – положительная корреляционная связь с IL-10, отрицательная при неаллергическом варианте БА с IL-4. Уровень апелина-36 в фазе обострения БА имел положительную корреляционную связь с IL-4. В фазе затихающего обострения БА – отрицательную корреляционную связь с IL-10. Выявленные различные корреляционные связи уровней апелина-12 и апелина-36 с уровнями цитокинов в плазме крови, отражающие, вероятно, протективное влияние этих адипокинов.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для анализа системы апелин/APJ при БА рекомендуется одновременная оценка комплекса изоформ апелинов (уровень апелина-12 и апелина-36), учитывая различный характер их изменений у больных БА.
2. Для анализа системы апелин/APJ при БА рекомендуется использование мокроты для оценки особенностей этой системы на местном уровне (орган-мишень).
3. Выявляемые особенности системы апелин/APJ могут служить в перспективе основанием для разработки таргетных лекарственных подходов, регулирующих активность этой системы при БА.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

A12 – апелин-12

A13 – апелин-13

A17 – апелин-17

A36 – апелин-36

АБА – аллергический вариант бронхиальной астмы

АЛТ - аланинаминотрансфераза

АСТ – аспартатаминотрансфераза

АПТВ – активированное парциальное тромбопластиновое время

БА – бронхиальная астма

ГКС – глюкокортикостероиды

ГЭРБ – гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь

ЖЕЛ – жизненная ёмкость легких

ЖКБ – желчекаменная болезнь

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ИКС – ингаляционные глюкокортикостероидные препараты

ИМТ – индекс массы тела

ИФА – иммуноферментный анализ

МОС – минутная объемная скорость (МОС50 и МОС75 – максимальные
объемные скорости потока на уровнях 50% и 75% ФЖЕЛ)

мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота

НАБА - неаллергический вариант бронхиальной астмы

ООЛ – остаточный объем лёгких

ОФВ1 – объем форсированного выдоха за 1 секунду

ПВ – протромбиновое время

ПЗЛ – практически здоровые лица

ПОС – пиковая объемная скорость

ПИ – протромбиновый индекс

пирА13 – пировиноградная форма апелина-13

СОС – средняя объемная скорость

СОЭ – скорость оседания эритроцитов

ФВД – функция внешнего дыхания

ФЖЕЛ – форсированная жизненная емкость легких

ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь лёгких

цАМФ – циклический аденозинмонофосфат

Arg - аргинин

CPAP – постоянное положительное давление в дыхательных путях

ДТРА – диэтилентриамин пентауксусной кислоты

GINA – Global Initiative for Asthma Global Strategy for Asthma Management and Prevention

ICAM – молекула межклеточной адгезии

IL- интерлейкин

Leu – лейцин

МАРК – митоген-активируемая протеинкиназа

МСР-1 – моноцитарный хемотаксический белок

NO – оксид азота

NOS - Синтаза оксида азота

PAI-1 - ингибитор активации плазминогена I типа

PI3K – фосфатидилинозитол – 3 киназа

Pro - пролин

Raw – аэродинамическое сопротивление дыхательных путей

ROS – активные формы кислорода

SGaw – специфическая удельная проводимость дыхательных путей

STAT – сигнальный белок, активатор транскрипции

TNF- α - фактор некроза опухоли альфа

TGF β – трансформирующий ростковый фактор бета

VCAM – молекула адгезии сосудистого эндотелия

ЛИТЕРАТУРА

1. Ахмедов, В.А. Роль гормональных механизмов в формировании и течении бронхиальной астмы / В.А.Ахмедов, А.А.Шевченко // Медицинский совет - 2015 - №16 – С. 108-112.
2. Лалаева, Т.М. Клинические и патогенетические аспекты адипокиновой сигнализации при бронхиальной астме в сочетании с избыточной массой тела: дис. на соиск. степ. док. мед. наук: 14.01.25 / Лалаева Татьяна Михайловна. – СПб., 2015. – 294 с.
3. Маев, И.В. Функциональная активность альвеолярных макрофагов у больных бронхиальной астмой и гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью / И.В.Маев, С.В.Лямина, С.В.Калиш [и др.] // Клиническая Медицина – 2013 - Том 91 № 6 – С. 41-47.
4. Минеев, В.Н. Клинико-патогенетическое значение резистина при бронхиальной астме с ожирением / В.Н.Минеев, Т.М.Лалаева, Т.С.Васильева, А.А.Кузьмина // Ученые записки СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова. – 2013. - Том XX, № 1. – С. 31-35.
5. Минеев, В.Н. Влияние IL-4 на активность транскрипционного фактора stat6 в лимфоцитах периферической крови больных бронхиальной астмой / В.Н.Минеев, Л.Н.Сорокина, М.А.Нема // Медицинская иммунология – 2009. – том 11, № 2-3 – С. 177-184.
6. Синельник, В.П. Роль апелина в патогенезе заболеваний сердечнососудистой системы и желудочно-кишечного тракта / В.П.Синельник // Международный медицинский журнал. – 2015 - № 1 - С. 18-21.
7. Теряева, Н.Б. Адипокины: регуляция энергетического метаболизма и патогенез сердечно-сосудистых заболеваний. / Н.Б.Теряева // Креативная кардиология. – 2007. - № 1–2. – С. 20-25
8. Тимчик, В.Г. Инфекционное и неинфекционное воспаление бронхолегочной системы у больных бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких: дис. на соиск. степ. канд. мед. наук: 14.01.25 / Тимчик Виктория Геннадьевна - СПб, 2017. - 95 с.

9. Федосеев, Г.Б. Многоликая бронхиальная астма. Диагностика, лечение и профилактика. / Г.Б.Федосеев, В.И.Трофимов, М.А.Петрова - СПб: Норбмедиздат, 2011. – 343 с.
10. Федосеев, Г.Б. В поисках истины: что такое бронхиальная астма? / Г.Б.Федосеев, В.И.Трофимов, Н.Л.Шапорова [и др.] // Пульмонология. – 2015. - № 1- С. 5-18.
11. Чубарова, С. В., Чернова И.А. и др. Апоптоз лимфоцитов периферической крови при бронхиальной астме различной степени тяжести / С.В.Чубарова, И.А.Чернова, А.Ю.Капошина [и др.] // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2013. - № 48. – С. 28-32.
12. Чучалин, А.Г. Справочник по пульмонологии. / под общ. ред. А.Г.Чучалина, М.М.Ильковича – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 932 с.
13. Чучалин, А.Г. Роль респираторных инфекций в обострениях бронхиальной астмы / А.Г.Чучалин, А.П.Оспельникова, Г.Л.Осипова [и др.] // Пульмонология. – 2007 - № 5 – С. 14–18.
14. Шустов, Е.Б. ЭКС-орфановые рецепторы как мишени для потенциальных лекарственных средств / Е.Б.Шустов, С.В.Оковитый // Биомедицина. – 2015. - № 2 – С. 15-26.
15. Abbasloo, E. Induction of antinociceptive tolerance to the chronic intrathecal administration of apelin-13 in rat / E.Abbasloo, H.Najafipour, S. Esmaeili-Mahani // Neuropeptides. – 2016 – Vol. 60 – P. 7-12.
16. Adam, F. Apelin: an antithrombotic factor that inhibits platelet function / F.Adam, A.M.Khatib, J.J.Lopez [et al.] // Blood. - 2016 – Vol. 127, N 7. – P. 908-920.
17. Alfarano, C. Transition from metabolic adaptation to maladaptation of the heart in obesity: role of apelin / C.Alfarano, C.Foussal, O.Lairez [et al.] // Int. J. Obes. (Lond). - 2015. - Vol. 39, N 2. – P. 312-320
18. Azizi, M. Reciprocal regulation of plasma apelin and vasopressin by osmotic stimuli / M.Azizi, X.Iturrioz, A.Blanchard [et al.] // J. Am. Soc. Nephrol. – 2008. – Vol. 19 – P. 1015-1024.

19. Bao, H.J. Apelin-13 as a novel target for intervention in secondary injury after traumatic brain injury / H.J.Bao, H.Y.Qiu, J.X.Kuai [et al.] // *Neural. Regen. Res.* – 2016. – Vol. 11 – P. 1128–1133.
20. Barnes, G. Translational promise of the apeline-APJ system / G.Barnes, A.G.Japp, D.E.Newby // *Heart* – 2010. – Vol. 96, N 13. – P. 1011-1016.
21. Barnes, K.C. Genetic studies of the etiology of asthma / K.C.Barnes // *Proc. Am. Thorac. Soc.* – 2011. – Vol. 8, N 2. – P. 143-148.
22. Berry, M. F. Apelin has in vivo inotropic effects on normal and failing hearts / M. F.Berry, T. J.Pirolli, V.Jayasankar [et al.] // *Circulation* . - 2004. - Vol. 110 (11, Suppl 1) - P. II187- II193.
23. Boucher, J. Apelin, a newly identified adipokine upregulated by insulin and obesity / J.Boucher, B.Masri, D.Daviaud [et al.] // *Endocrinology*. – 2005. – Vol. 146. N 4. – P. 1764-1771.
24. Cai, X. Apelin receptor homodimer-oligomers revealed by single-molecule imaging and novel G protein-dependent signaling / X.Cai, B.Bai, R.Zhang [et al.] // *Sci. Rep.*- 2017 – Vol 7, 40335. - P. 1-15.
25. Castan-Laurell, I. Apelin, a promising target for type 2 diabetes treatment? / I.Castan-Laurell, C.Dray, C.Knauf [et al.] // *Trends Endocrinol. Metab.* - 2012.- Vol. 23, N 5. - P. 234-241.
26. Castan-Laurell, I. Apelin, diabetes, and obesity / I.Castan-Laurell, C.Dray, C.Attané [et al.] // *Endocrine*. – 2011. - N 40 (1). - P. 1-9.
27. Chandra, S.M. Disruption of the apelin-APJ system worsens hypoxia-induced pulmonary hypertension / S.M.Chandra, H.Razavi, J.Kim [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2011. - Vol. 31, N 4. – P. 814-820.
28. Charo, D.N. Endogenous regulation of cardiovascular function by apelin-APJ / D.N.Charo, M.Ho, G.Fajardo [et al.] // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2009 – Vol 297 – P. 1904-1913.
29. Chen, L. Apelin activates the expression of inflammatory cytokines in microglial BV2 cells via PI-3K/Akt and MEK/Erk pathways / L.Chen, Y.Tao, Y.Jiang // *Sci China Life Sci.* – 2015. – Vol. 58 N 6. – P. 531-540.

30. Chen, M.M. Novel Role for the Potent Endogenous Inotrope Apelin in Human Cardiac Dysfunction / M.M. Chen, E.A.Ashley, D.X.Deng [et al.] // *Circulation*. – 2003. – Vol. 108 N 12. – P. 1432-1439.
31. Chen, D. Intranasal Delivery of Apelin-13 Is Neuroprotective and Promotes Angiogenesis After Ischemic Stroke in Mice / D.Chen, J.Lee, X.Gu [et al.] // *ASN Neuro*. – 2015. – N 7 (5). – P. 1-15.
32. Cheng, X. Venous dilator effect of apelin, an endogenous peptide ligand for the orphan APJ receptor, in conscious rats / X.Cheng, X.S.Cheng, C.C.Pang // *Eur. J. Pharmacol.* – 2003. - Vol. 470. N 3. - P. 171–175.
33. Chong, K.S. Plasma concentrations of the novel peptide apelin are decreased in patients with chronic heart failure / K.S.Chong, R.S.Gardner, J.J.Morton [et al.] // *Eur. J. Heart Fail.* – 2006. –Vol. 8, N 4. – P. 355-360.
34. Cui, R.R. Apelin suppresses apoptosis of human vascular smooth muscle cells via APJ/PI3-K/Akt signaling pathways / R.R.Cui, D.A.Mao, L.Yi [et al.] // *Amino Acids* - 2010. - Vol. 39, N 5. – P. 1193-1200.
35. Daviaud, D. TNF α up-regulates apelin expression in human and mouse adipose tissue / D.Daviaud, J.Boucher, S.Gesta [et al.] // *FASEB J.* – 2006. – Vol. 20. – P. 1528-1530.
36. Day, R.T. Apelin retards the progression of diabetic nephropathy / R.T.Day, R.C.Cavaglieri, D. Feliers // *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* - 2013. – Vol 304, N 6. – P. F788-F800.
37. De Mota, N. Apelin, a potent diuretic neuropeptide counteracting vasopressin actions through inhibition of vasopressin neuron activity and vasopressin release / N.De Mota, A.Reaux-Le Goazigo, S.El Messari [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* – 2004. - Vol. 101, N. 28 - P. 10464-10469.
38. De Visser, Y.P. Apelin attenuates hyperoxic lung and heart injury in neonatal rats / Y.P.De Visser, F.J.Walther, E.H.Laghmani [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2010. – Vol. 182. – P. 1239-1250.

39. Duparc, T. Central apelin controls glucose homeostasis via a nitric oxide-dependent pathway in mice / T.Duparc, A.Colom, P.D.Cani [et al.] // *Antioxid. Redox. Signal.* - 2011. - Vol. 15, N. 6. - P. 1477-1496.
40. El-Mesallamy, H.O. Apelin serum level in Egyptian patients with chronic hepatitis C / H.O. El-Mesallamy, N.M.Hamdy, H.H.Rizk, A.R.El-Zayadi // *Mediators of Inflammation.* - 2011. - Vol. 2011 - P. 1-7.
41. El Messari, S. Functional dissociation of apelin receptor signaling and endocytosis: implications for the effects of apelin on arterial blood pressure / S.El Messari, X.Iturrioz, C. Fassot [et al.] // *J. Neurochem.* - 2004. - Vol. 90. N 6. - P. 1290-1301.
42. Emam, M.N. Promoting effect of adipocytokine, apelin, on hepatic injury in caerulein-induced acute pancreatitis in rats: Apelin on AP-induced hepatic injury / M.N.Emam, R.E.Abo // *Alexandria J. Med.* - 2016. - Vol. 52, N 4. - P. 309-315
43. Erdem, G. Low plasma apelin levels in newly diagnosed type 2 diabetes mellitus / G.Erdem, T.Dogru, I.Tasci [et al.] // *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes.* - 2008. Vol. 116. - P. 289 - 292.
44. Fan, X.F. The Apelin-APJ axis is an endogenous counterinjury mechanism in experimental acute lung injury / X.F.Fan, F.Xue, Y.Q.Zhang [et al.] // *Chest.* - 2015 - Vol. 147 N 4. - P. 969-978.
45. Fan, X.F. Protective and therapeutic effect of apelin on chronic hypoxic pulmonary hypertension in rats / X.F.Fan, Q.Wang, S.Z.Mao [et al.] // *Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi.* - 2010. - Vol. - 26 - P. 9-12.
46. Fan, Y. Treatment with metformin and a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor elevates apelin levels in patients with type 2 diabetes mellitus / Y.Fan, Y.Zhang, X.Li [et al.] // *Drug Des. Devel. Ther.* - 2015 - Vol. 9. - P. 4679-4683.
47. Feng, J.H. Hemodynamic effect of apelin in a canine model of acute pulmonary thromboembolism / J.H.Feng, W.M.Li, X.P.Wu [et al.] // *Peptides.* - 2010. - Vol. 31 - P. 1772-1778.

48. Foussal, C. Activation of catalase by apelin prevents oxidative stress-linked cardiac hypertrophy / C.Foussal, O.Lairez, D.Calise [et al.] // FEBS Letters. - 2010. - Vol. 584. - P. 2363–2370.
49. Global Strategy for Asthma Management and Prevention // Global Initiative for Asthma, updated 2016 – www.ginasthma.org – P. 14
50. Goetze, J.P. Apelin: a new plasma marker of cardiopulmonary disease / J.P.Goetze, J.F.Rehfeld, J.Carlsen [et al.] // Regul. Pept. – 2006. – Vol. 133. – P. 134–138.
51. Gurzu, B. Putative roles of apelin on airways hyperreactivity / B.Gurzu, I.L.Dumitriu, B.C.Petrescu [et al.] // Eur. Respir. J. – 2007. – Vol. 30, Suppl. 51. – P. 134S.
52. Habata, Y. Apelin, the natural ligand of the orphan receptor APJ, is abundantly secreted in the colostrum / Y.Habata, R.Fujii, M.Hosoya [et al.] // Biochim. Biophys. Acta. – 1999. – Vol. 1452 – P. 25-35.
53. He, L. Apelin/APJ signaling in hypoxia-related diseases / L.He, J.Xu, L.Chen, L.Lanfang // Clinica Chimica Acta. – 2015. – Vol. 451(Pt B). – P. 191-198.
54. Henley, D.E. Plasma apelin levels in obstructive sleep apnea and the effect of continuous positive airway pressure therapy / D.E.Henley, F.Buchanan, R.Gibson [et al.] // J. Endocrinol. – 2009. - Vol 203. - P. 181-188.
55. Higuchi, K. Apelin, an APJ receptor ligand, regulates body adiposity and favors the messenger ribonucleic acid expression of uncoupling proteins in mice / K.Higuchi, T.Masaki, K.Gotoh [et al.] // Endocrinology. - 2007. - Vol. 148. - P. 2690–2697.
56. Hamada, J. Evaluation of novel cyclic analogues of apelin / Hamada J., Kimura J., Ishida J. [et al.] // Int. J. Mol. Med. - 2008. - Vol. 22. - P. 547–552.
57. Han, S. Involvement of a Stat3 binding site in inflammation-induced enteric apelin expression / S.Han, G.Wang, X.Qi [et al.] // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. - 2008. - Vol. 295, N. 5. - P. 1068-1078.
58. Hosoya, M. Molecular and functional characteristics of APJ. Tissue distribution of mRNA and interaction with the endogenous ligand apelin / M.Hosoya,

Y.Kawamata, S.Fukusumi [et al.] // J. Biol. Chem. - 2000. - Vol. 275, N 28. - P. 21061–21067.

59. Horiuchi, Y. The endogenous, immunologically active peptide apelin inhibits lymphocytic cholinergic activity during immunological responses / Horiuchi Y., Fujii T., Kamimura Y. et al. – J. Neuroimmunol. – 2003. - Vol. 144 N 1-2. – P. 46-52.

60. Hu, P.F. Apelin plays a catabolic role on articular cartilage: in vivo and in vitro studies / P.F.Hu, W.P.Chen, J.L.Tang // Int. J. Mol. Med. – 2010 – Vol. 26 N 3. P. 357-363.

61. Hus-Citharel, A. Effect of apelin on glomerular hemodynamic function in the rat kidney / A.Hus-Citharel, N.Bouby, A.Frugiere [et al.] // Kidney Int. – 2008. Vol 74 – P. 486-494.

62. Iturrioz, X. Identification and pharmacological properties of E339–3D6, the first nonpeptidic apelin receptor agonist / X.Iturrioz, R.Alvear-Perez, N.De Mota [et al.] // FASEB. - 2010. - Vol. 24, N 5. - P. 1506–1517

63. Izgüt-Uysal, V.N. The effect of apelin on the functions of peritoneal macrophages / V.N.Izgüt-Uysal, B.Gemici, I.Birsen [et al.] // Physiol. Res. – 2017. – Epub. ahead of prin - <http://www.biomed.cas.cz/physiolres/pdf/prepress/933349.pdf>

64. Japp, A.G. Vascular effects of apelin in vivo in man / A.G.Japp, N.L.Crudén, D.A.Amer [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. – 2008. - Vol. 52, N. 11. - P. 908-913.

65. Japp, A.G. Unlocking the Therapeutic Potential of Apelin / A.G.Japp, D.E.Newby // Hypertension. - 2016 – Vol. 68 (2). – P. 307-309

66. Jia, Z.Q. Cardiovascular effects of a PEGylated apelin / Jia Z.Q., Hou L., Leger A. [et al.] // Peptides. - 2012. - Vol. 38, N 1. - P. 181–188.

67. Jiao, H. Mechanism underlying the inhibitory effect of Apelin-13 on glucose deprivation-induced autophagy in rat cardiomyocytes / H.Jiao, Z.Zhang, Q.Ma [et al.] // Exp. Ther. Med. – 2013. – Vol. 5 – P. 797–802.

68. Karmazyn, M. The myocardial Na(+)-H(+) exchange: structure, regulation, and its role in heart disease/ M.Karmazyn, X.T.Gan, R.A.Humphreys [et al.] // Circ. Res. – 1999. – Vol. 85. – P. 777-786.

69. Kasai, A. Apelin is a novel angiogenic factor in retinal endothelial cells / A.Kasai, N.Shintani, M.Oda, M.Kakuda [et al.] // Bioch. Biophys. Res. Commun. - 2004. - Vol. 325, N. 2. - P. 395-400.
70. Kim, J. An endothelial apelin-FGF link mediated by miR-424 and miR-503 is disrupted in pulmonary arterial hypertension / J.Kim, Y.Kang, Y.Kojima // Nat. Med. - 2013 – Vol. 19, N 1. – P. 74-82.
71. Koguchi, W. Cardioprotective effect of apelin-13 on cardiac performance and remodeling in end-stage heart failure / W.Koguchi, N.Kobayashi, H.Takeshima [et al.] // Circ. J. - 2012. – Vol. 76, N 1. – P. 137-144
72. Le Gonidec, S. Protamine is an antagonist of apelin receptor, and its activity is reversed by heparin / S.Le Gonidec, C.Chaves-Almagro, Y.Bai [et al.] // FASEB J. - 2017 - Vol. 31 - P. 2-13.
73. Lee, D.K. Agonist-independent nuclear localization of the Apelin, angiotensin AT1, and bradykinin B2 receptors / D.K.Lee, A.J.Lanca, R.Cheng [et al.] // J. Biol. Chem. - 2004. - Vol. 279, N. 9. - P. 7901-8.
74. Lee, D. K. Characterization of apelin, the ligand for the APJ receptor / D.K.Lee, R.Cheng, T.Nguyen [et al.] // J. Neurochem. - 2000. - Vol. 74, N.1. - P. 34-41.
75. Lee, D.K. Modification of the terminal residue of apelin-13 antagonizes its hypotensive action / D.K.Lee, V.R.Saldivia, T.Nguyen [et al.] // Endocrinology. - 2005. - Vol. 146 (1). - P. 231–236.
76. Leeper, N. J. Apelin prevents aortic aneurysm formation by inhibiting macrophage inflammation / N. J.Leeper, M. M.Tedesco, Y.Kojima [et al.] // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. - 2009. - Vol. 296 N 5. - P. 1329-1335.
77. Li, F. Apelin-induced vascular smooth muscle cell proliferation: the regulation of cyclin D1 / F.Li, L.Li, X.Qin [et al.] // Front. Biosci - 2008. - Vol. 13. - P. 3786-3792.
78. Li, X. 14-3-3 mediates apelin-13-induced enhancement of adhesion of monocytes to human umbilical vein endothelial cells / X.Li, X.Zhang, F.Li [et al.] // Acta. Biochim. Biophys. Sin. (Shanghai). – 2010. – Vol. 42, N 6. – P. 403-409.

79. Li, Y. Heterodimerization of human apelin and kappa opioid receptors: roles in signal transduction / Y.Li, J.Chen, B.Bai [et al.] // *Cell Signal.* – 2012. – Vol 24, N 5. – P. 991-1001.
80. Lu, Q. Apelin-13 regulates proliferation, migration and survival of retinal Muller cells under hypoxia / Q.Lu, Y.R.Jiang, J.Qian, Y.Tao // *Diabetes Res. Clin. Pract.* – 2013. – Vol. 99 – P. 158–167.
81. Lu, Y. Apelin-APJ induces ICAM-1, VCAM-1 and MCP-1 expression via NF- κ B/JNK signal pathway in human umbilical vein endothelial cells / Y.Lu, X.Zhu, G.X.Liang [et al.] // *Amino. Acids.* – 2012. – Vol. 43, N 5. – P. 2125-2136.
82. Luo, J.W. Resistin-induced cardiomyocyte hypertrophy is inhibited by apelin through the inactivation of extracellular signal-regulated kinase signaling pathway in H9c2 embryonic rat cardiomyocytes / J.W.Luo, X.Zheng, G.C.Cheng [et al.] // *Biomed. Rep.* - 2016. - Vol. 5 N 4. – P. 473-478.
83. Luo, K. Apelin attenuates postburn sepsis via a phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B dependent mechanism: A randomized animal study / K.Luo, H.Long, B.Xu, Y.Luo // *Int. J. Surg.* - 2015. – Vol. 21. P. 22-27.
84. Ma, W.Y. Plasma apelin: A novel biomarker for predicting diabetes / W.Y.Ma, T.Y.Yu, J.N.Wei [et al.] // *Clin. Chim. Acta.* – 2014. – Vol. 435. – P. 18-23.
85. Macaluso, N.J. Discovery of a Competitive Apelin Receptor (APJ) Antagonist / N.J.Macaluso, S.L.Pitkin, J.J.Maguire [et al.] // *Chem. Med. Chem.* - 2011. - Vol. 6, N 6. - P. 1017–1023.
86. Macaluso, N.J. Exploring the ‘RPRL’ Motif of Apelin-13 through Molecular Simulation and Biological Evaluation of Cyclic Peptide Analogues / N.J.Macaluso, R.C. Glen // *Chem. Med. Chem.* - 2010. - Vol. 5. - P. 1247–1253.
87. Machura, E. Serum apelin-12 level is elevated in schoolchildren with atopic asthma / E.Machura, K.Ziora, D.Ziora [et al.] // *Respiratory Medicine.* – 2013. – Vol. 107, N 2. – P. 196-201.
88. Machura, E. Evaluation of adipokines: apelin, visfatin, and resistin in children with atopic dermatitis / E.Machura, M.Szczepanska, K.Ziora [et al.] // *Mediators of Inflammation.* – 2013. – Vol. 2013. – P. 1-8.

89. Maguire, J. J. [Pyr1]apelin-13 identified as the predominant apelin isoform in the human heart: vasoactive mechanisms and inotropic action in disease / J.J.Maguire, M.J.Kleinz, S.L.Pitkin [et al.] // Hypertension. - 2009. - Vol. 54, N. 3. - P. 598-604.
90. Maloney, P.R. Discovery of 4-oxo-6-((pyrimidin-2-ylthio)methyl)-4H-pyran-3-yl 4-nitrobenzoate (ML221) as a functional antagonist of the apelin (APJ) receptor / P.R.Maloney, P.Khan, M.Hedrick [et al.] // Bioorg. Med. Chem. Lett. - 2012. - Vol. 22, N 2. - P. 6656-6660
91. Mao, X.H. Apelin-13 promotes monocyte adhesion to human umbilical vein endothelial cell mediated by phosphatidylinositol 3-Kinase signaling pathway / X.H.Mao, T.Su, X.H.Zhang [et al.] // Progress in Biochemistry and Biophysics. - 2011. - Vol. 38, N 12. - P. 1162-1170.
92. Masri, B. Apelin (65–77) activates extracellular signal-regulated kinases via a PTX-sensitive G protein / B.Masri, H.Lahlou, H.Mazarguil, B.Knibiehler, Y.Audigier // Biochem. Biophys. Res. Commun. - 2002 - Vol. 290 - P. 539–545.
93. Masri, B. Apelin (65–77) activates p70 S6 kinase and is mitogenic for umbilical endothelial cells / B.Masri, N.Morin, M.Cornu [et al.] // Faseb. J. - 2004. - Vol. 18, N. 15. - P. 1909-1911.
94. Medhurst, A.D Pharmacological and immunohistochemical characterization of the APJ receptor and its endogenous ligand apelin / A.D.Medhurst, C.A.Jennings, M.J.Robbins [et al.] // J. Neurochem. - 2003. - Vol. 84, N 5. - P. 1162-1172.
95. Melgar-Lesmes, P. Apelin mediates the induction of profibrogenic genes in human hepatic stellate cells / P.Melgar-Lesmes, G.Casals, M.Pauta [et al.] // Endocrinology. - 2010. - Vol. 151 - P. 5306–5314.
96. Mesmin, C. Identification and characterization of apelin peptides in bovine colostrum and milk by liquid chromatography-mass spectrometry / C.Mesmin, F.Fenaille, F.Becher, J.C.Tabet // J. Proteome. Res. - 2011. - Vol. 10 (11). - P. 5222–5231.

97. Mineev, V.N. Annexin-V binding of phosphatidylserine and caspase-3 activity of lymphocytes in bronchial asthma / V.N.Mineev, V.I.Trofimov, I.I.Nesterovich [et al.] // *European Respiratory Journal*, 15th ERS Annual Congress, Copenhagen – 2005. - Vol. 26 (49) - P. 590S. - Abstract № 3772
98. Murza, A. Elucidation of the Structure –Activity Relationships of Apelin: Influence of Unnatural Amino Acids on Binding, Signaling, and Plasma Stability / A.Murza, A.Parent, E. Besserer-Offroy [et al.] // *Chem. Med. Chem.* - 2012. - Vol. 7. - P. 318–325.
99. Obara, S. Pyroglutamated Apelin-13 Inhibits Lipopolysaccharide-Induced Production of Pro-Inflammatory Cytokines in Murine Macrophage J774.1 Cells / O. Shigeyuki, S.Akifusa, W.Ariyoshi [et al.] // *Modern Research in Inflammation*. – 2014. – Vol. 3. – P. 59-66.
100. O'Carroll, A.M. APJ receptor mRNA expression in the rat hypothalamic paraventricular nucleus: regulation by stress and glucocorticoids / A.M.O'Carroll, A.L.Don, S.J. Lolait // *J. Neuroendocrinol.* – 2003. - Vol. 15 – P. 1095–1101.
101. O'Carroll, A.M. Distribution of mRNA encoding B78/apj, the rat homologue of the human APJ receptor, and its endogenous ligand apelin in brain and peripheral tissues / A. M.O'Carroll, T.L.Selby, M.Palkovits [et al.] // *Biochim. Biophys. Acta.* - 2000. - Vol. 1492. - P. 72–80.
102. O'Dowd, B.F. A human gene that shows identity with the gene encoding the angiotensin receptor is located on chromosome 11 / B. FO'Dowd, M.Heiber, A.Chan [et al.] // *Gene.* - 1993. - Vol. 136. - P. 355-360.
103. Pan, C.S. Apelin antagonizes myocardial impairment in sepsis // C.S.Pan, X. Teng, J.Zhang [et al.] // *J. Card. Fail.* – 2010. – Vol. 16(7). – P. 609-617.
104. Piai, P. The apelinergic system in the developing lung: expression and signaling / P.Piai, R.S.Moura, C.Nogueira-Silva [et al.] // *Peptides* – 2011. – Vol. 32. – P. 2474-2483.
105. Perjés, Á. Apelin increases cardiac contractility via protein kinase C ϵ - and extracellular signal-regulated kinase-dependent mechanisms / Á.Perjés, R.Skoumal, O.Tenhunen [et al.] // *PLoS One.* - 2014 - Vol. 9, N 4. – P. e93473.

106. Popovic, D.S. Relation of resistin, leptin and adiponectin - trinity of adipose tissue dysfunction assessment / D.S.Popovic, D.Tomic-Naglic, E.Stokic // Eur. J. Intern. Med. - 2014 - Vol. 25 N 6. – P. 80-81.
107. Reaux-Le Goazigo, A. Dehydration-induced cross-regulation of apelin and vasopressin immunoreactivity levels in magnocellular hypothalamic neurons / A.Reaux-Le Goazigo, A.Morinville, A.Burlet [et al.] // Endocrinology. - 2004. - Vol. 145. - P. 4392–4400.
108. Roberts, E.M. Stimulus-specific neuroendocrine responses to osmotic challenges in apelin receptor knockout mice / E.M.Roberts, G.R.Pope, M.J.Newson [et al.] // J. Neuroendocrinol. – 2010. – Vol 22. – P. 301-308.
109. Rossi, A. Adiponectin inhibits neutrophil apoptosis via activation of AMP kinase, PKB and ERK 1/2 MAP kinase / A.Rossi, J.M.Lord // Apoptosis. – 2013. - Vol. 18. – P. 1469–1480.
110. Sawane, M. Apelin attenuates UVB-induced edema and inflammation by promoting vessel function / M.Sawane, H.Kidoya, F.Muramatsu [et al.] // Am. J. Pathol. – 2011. – Vol. 179, N 6 – P. 2691-2697.
111. Scimia, M.C. APJ acts as a dual receptor in cardiac hypertrophy / M.C.Scimia, C.Hurtado, S.Ray [et al.] // Nature. - 2012 – Vol. 488 (7411) – P. 394-398.
112. Seyedabadi, M. Site-specific effects of apelin-13 in the rat medulla oblongata on arterial pressure and respiration / M.Seyedabadi, A.K.Goodchild, P.M.Pilowsky // Auton. Neurosci. – 2002. – Vol. 101 – P. 32-38
113. Shin, K. Preferential apelin-13 production by the proprotein convertase PCSK3 is implicated in obesity / K.Shin, A.Pandey, X.Q.Liu [et al.] // FEBS Open Bio. – 2013. – Vol. 3 – P. 328-333.
114. Shore, S.A. Adiponectin attenuates allergen-induced airway inflammation and hyperresponsiveness in mice / S.A.Shore, R.D.Terry, L.Flynt [et al.] // J. Allergy Clin. Immunol. – 2006. – Vol. 118, N 2. – P. 389-395.
115. Smekal, A. Adipokines and cardiovascular disease: A comprehensive review / A.Smekal, J.Vaclavik // Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky. Olomouc. Czech. Repub. – 2017. - Vol. 161 N 1. – P. 31-40.

116. Sood, A. Obesity, adipokines, and lung disease / A.Sood // J. Appl. Physiol. – 2010. – Vol 108 (3). - P. 744-753.
117. Sorli, S.C. Apelin is a potent activator of tumour neoangiogenesis \ S.C.Sorli., S.Le Gonidec, B.Knibiehler [et al.] // Oncogene. - 2007. - Vol. 26, N. 55. - P. 7692-7699.
118. Szokodi, I. Apelin, the novel endogenous ligand of the orphan receptor APJ, regulates cardiac contractility / I.Szokodi, P.Tavi, G.Foldes [et al.] // Circ. Res. – 2002. - Vol. 91, N. 5. - P. 434-440.
119. Tatemoto, K. Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor / K.Tatemoto, M.Hosoya, Y.Habata [et al.] // Biochem. Biophys. Res. Commun. - 1998. - Vol. 251, N. 4. - P. 471-476.
120. Tatemoto, K. The novel peptide apelin lowers blood pressure via a nitric oxidedependent mechanism / K.Tatemoto, K.Takayama, M.X.Zou [et al.] // Regul. Pept. - 2001. - Vol. 99, N 2-3. - P. 87-92.
121. Than, A. Apelin attenuates oxidative stress in human adipocytes / A.Than, X.Zhang, M.K.Leow [et al.] // J. Biol. Chem. – 2014. – Vol. 289, N 6 – P. 3763-3774.
122. Tiani, C. Apelin signaling modulates splanchnic angiogenesis and portosystemic collateral vessel formation in rats with portal hypertension / C.Tiani, E.Garcia-Pras, M.Mejias [et al.] // J. Hepatol. - 2009. - Vol. 50, N. 2. - P. 296-305.
123. Verbout, N.G. Impact of adiponectin overexpression on allergic airways responses in mice / N.G.Verbout, L.Benedito, A.S.Williams [et al.] // J. Allergy (Cairo). – 2013. – Vol. 2013. – 13 p.
124. Wang, G. Ontogeny of apelin and its receptor in the rodent gastrointestinal tract / G.Wang, R.Kundu, S.Han [et al.] // Regul. Pept. – 2009. – Vol. 158. – P. 32-39.
125. Wang, G. Regulation of Colonic Trefoil Factor 3 By Apelin / G.Wang, R.K.Kundu, S.Han [et al.] // Gastroenterology. – 2008. – Vol 134, N 4. – P. A-392.
126. Wang, L.Y. The regulatory peptide apelin: a novel inhibitor of renal interstitial fibrosis / L.Y.Wang, Z.L.Diao, D.L.Zhang // Amino Acids. – 2014. – Vol. 46, N 12. – P. 2693-2704.

127. Wang, W. Loss of Apelin Exacerbates Myocardial Infarction Adverse Remodeling and Ischemia-reperfusion Injury: Therapeutic Potential of Synthetic Apelin Analogues / W.Wang, S.M.McKinnie, V.B.Patel [et al.] // J. Am. Heart. Assoc. - 2013.- Vol. 2, N 4. - P. e000249.
128. Weir, R.A. Plasma apelin concentration is depressed following acute myocardial infarction in man / R.A.Weir, K.S.Chong, J.R.Dalzell [et al.] // Eur. J. Heart Fail. - 2009. - Vol. 11, N. 6. - P. 551-558
129. Xie, H. Apelin suppresses apoptosis of human osteoblasts / H.Xie, L.Q.Yuan, X.H.Luo [et al.] // Apoptosis. – 2007. - Vol. 12– P. 247-254.
130. Xin, Q. Neuroprotective effects of apelin-13 on experimental ischemic stroke through suppression of inflammation / Q.Xin, B.Cheng, Y.Pan [et al.] // Peptides. – 2015. – Vol. 63. – P. 55-62.
131. Yu, Q.C. APELIN promotes hematopoiesis from human embryonic stem cells / Q.C.Yu., C.E.Hirst, M.Costa [et al.] // Blood. – 2012. - Vol. 119, N 26. – P. 6243-6254
132. Yue, P. Apelin is necessary for the maintenance of insulin sensitivity / P.Yue, H.Jin., M.Aillaud [et al.] // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. - 2010. - Vjl. 298. - P. E59–E67.
133. Zeng, H. Apelin gene therapy increases myocardial vascular density and ameliorates diabetic cardiomyopathy via upregulation of sirtuin 3 / H.Zeng, X.He, X.Hou, L.Li, J.X.Chen // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2014. – Vol. 306. – P. H585–H597.
134. Zeng, X.J. Apelin protects heart against ischemia/reperfusion injury in rat / X.J.Zeng, K.Zhang, H.X.Wang [et al.] // Peptides. – 2009. – Vol 30(6). – P. 1144-52.
135. Zou, M.X. Apelin peptides block the entry of human immunodeficiency virus (HIV) / M.X.Zou, H.Y.Liu, Y.Haraguchi [et al.] // FEBS Letters. – 2000. – Vol. 473 - 15-18.