DOI: 10.18087/cardio.2019.1.2625

Арутюнов А. Г.[1], Ильина К. В.[1, 2], Арутюнов Г. П.[1], Колесникова Е. А.[1], Пчелин В. В.[2], Кулагина Н. П.[2], Токмин Д. С.[3], Тулякова Э. В.[2]

[1] ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия

[2] ГБУЗ «Городская клиническая больница № 4», Москва, Россия

[3] ООО «Ай Пи Ти Медицина» Москва, Россия

Морфофункциональные особенности диафрагмы у больных с хронической сердечной недостаточностью

Ключевые слова: хроническая сердечная недостаточность, функциональные классы хронической сердечной недостаточности, диафрагма, максимальное давление на вдохе, максимальная толщина диафрагмальной мышцы, аутоптаты.

Ссылка для цитирования: Арутюнов А. Г., Ильина К. В., Арутюнов Г. П., Колесникова Е. А., Пчелин В. В., Кулагина Н. П., Токмин Д. С., Тулякова Э. В. Морфофункциональные особенности диафрагмы у больных с хронической сердечной недостаточностью. Кардиология. 2019;59(1):12–21.

Резюме

Цель исследования. Изучение изменений в объемах мышечной, жировой, соединительной ткани в диафрагме, правом желудочке (ПЖ), нижней конечности у больных с хронической сердечной недостаточностью (ХСН), а также морфологических изменений в мышечной структуре диафрагмы и сопоставление их с прижизненными параметрами внешнего дыхания, в частности, с величиной максимального давления, развиваемого на вдохе, с одновременным измерением ее амплитуды при помощи ультразвукового метода исследования. *Материалы и методы.* Исследованы 39 аутоптатов мышц диафрагмы, ПЖ, нижней конечности (20 мужчин и 19 женщин) в течение 24 ч после летального исхода. Прижизненно у пациентов диагностирована ХСН I–IV функционального класса (ФК) по NYHA, гипертоническая болезнь, ишемическая болезнь сердца. Подсчет клеточных элементов в тканях производили вручную. На выведенных на экран изображениях при помощи сканера гистологических стекол Leica Aperio AT2 с использованием экранного микрометра вычисляли площадь микропрепарата и каждого волокна, суммировали и определяли процентное содержание тканей и клеточных элементов. Исследование функции внешнего дыхания и измерение силы дыхательных мышц, исследование сократительной функции диафрагмы, методом эхолокации были выполнены за 56,7±11,9 дня до летального исхода. *Результаты.* Изменения в объеме мышечной ткани при всех ФК ХСН наиболее выражены в ПЖ и диафрагме и менее выражены в икроножной мышце. Увеличение объема жировой ткани у пациентов с I–III ФК ХСН наиболее выражено в ПЖ и в диафрагме и менее выражено в икроножной мышце. У пациентов с IV ФК ХСН наибольший прирост объема жировой ткани регистрируется в диафрагме. Изменение объема соединительной ткани не подчиняется линейной зависимости. Наибольший, «скачкообразный» прирост объема соединительной ткани происходил в диафрагме у пациентов с III ФК ХСН, что значимо опережает этот процесс в периферических мышцах и миокарде ПЖ. Зафиксированная устойчивая взаимосвязь между тканевой структурой диафрагмы и максимальной толщиной диафрагмальной мышцы на вдохе, максимальным давлением на вдохе: положительная для пар объем мышечной ткани – толщина диафрагмальной мышцы и объем мышечной ткани – давление на вдохе и отрицательная для пар объем соединительной ткани – толщина диафрагмальной мышцы, объем соединительной ткани – давление на вдохе и объем жировой ткани – давление на вдохе. Во всех случаях коэффициент корреляции составил более 0,85 по модулю, а значимость (p) – менее 0,01. *Заключение.* Морфофункциональные изменения диафрагмы обусловлены прогрессивным снижением содержания мышечной ткани, ростом объема жировой и соединительной ткани. Эти изменения коррелируют с ФК ХСН, максимальной толщиной диафрагмальной мышцы на вдохе и величиной максимального давления на вдохе. Максимальную выраженность морфологические изменения приобретают у пациентов с ХСН III ФК.

Arutyunov A. G.[1], Ilyina K. V.[1, 2], Arutyunov G. P.[1], Kolesnikova E. A.[1], Pchelin V. V.[2], Kulagina N. P.[2], Tokmin D. S.[3], Tulyakova E. V.[2]

[1] Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

[2] City Hospital № 4, Moscow, Russia

[3] IPT Medicine, Moscow, Russia

Morphofunctional Features of The Diaphragm in Patients With Chronic Heart Failure

For citation: Arutyunov A. G., Ilyina K. V., Arutyunov G. P., Kolesnikova E. A., Pchelin V. V., Kulagina N. P., Tokmin D. S., Tulyakova E. V. Morphofunctional Features of the Diaphragm in Patients With Chronic Heart Failure. Kardiologiia. 2019;59(1):12–21.

Keywords: chronic heart failure; functional class; diaphragm; maximal inspiratory pressure; diaphragmatic muscle; maximal thickness; autoptate; postmortem tissue sample.

Summary

Aim: to study changes in the volumes of muscle, fat, and connective tissue in postmortem issue samples (autoptates) from diaphragm, right ventricle, lower limb (gastrocnemius muscle), as well as morphological changes of the diaphragm muscular structure in patients with different functional classes of heart failure (HF), and to compare them with some intravital parameters of external respiration (with maximal inspiratory pressure and its amplitude simultaneously measured by ultrasound method in particular). *Materials and methods.* Autoptates of the diaphragm muscle, right ventricle, lower limb (n=39) from 20 men and 19 women (with in vivo diagnosis CHF NYHA functional class (FC) I-IV, hypertension, ischemic heart disease) were examined within 24 hours after the fatal outcome. Light optical microscopy was used to assess the percentages of muscle, connective, adipose tissue, numbers of fibroblasts, and collagen fibers. Spirometric measurements, measurement of respiratory muscles strength, and examination of the diaphragm contractile function were performed by echolocation 56.7±11.9 days before death. *Results.* In patients of all NYHA FCs most pronounced changes of volume of muscle tissue were observed in the right ventricle and diaphragm, while less pronounced – in the gastrocnemius muscle. The increase in the volume of adipose tissue in patients with I-III FC CHF was most pronounced in the right ventricle and diaphragm, and less pronounced – in the gastrocnemius muscle. The greatest increase in the adipose tissue volume was recorded in the diaphragm of patients with IV FC. Changes of connective tissue volume did not follow linear dependence. The largest "leap-like" increase in the volume of connective tissue occurred in the diaphragm of patients with III FC, what significantly outstripped this process in peripheral muscles and right ventricular myocardium. There was stable relationship between structure of tissue of the diaphragm, maximal inspiratory thickness of diaphragmatic muscle, and maximal inspiratory pressure. This relation (correlation) was positive for pairs muscle tissue volume – muscle thickness and muscle tissue volume – inspiratory pressure, and negative for pairs connective tissue volume – muscle thickness, connective tissue volume - inspiratory pressure, adipose tissue volume - inspiratory pressure ($r>0.85$, $p<0.01$ for all these correlations). *Conclusion.* Morphofunctional changes in the diaphragm are caused by progressive decrease in the content of muscle tissue, increases of volumes of adipose and connective tissues. These changes correlate with the CHF FC, maximal inspiratory thickness of diaphragmatic muscle, and maximal inspiratory pressure. Severity of these morphological changes is maximal in patients with FC III CHF.

Функциональное состояние диафрагмы, ее механические свойства и, следовательно, полноценность функции внешнего дыхания у здоровых людей регламентируются возрастными изменениями. Эта связь воспринимается нами как проявление естественного старения [1, 2]. Ряд хронических заболеваний, в первую очередь хроническая сердечная недостаточность (ХСН), инициируя морфологические изменения в структуре диафрагмы, значимо и независимо от возраста ухудшает ее функциональное состояние. Формирующиеся уже в дебюте заболевания морфофункциональные изменения начинают играть самостоятельную роль в патогенезе развития недостаточности кровообращения, приводя к резкому снижению бронхиального клиренса и росту риска развития пневмонии, снижению толерантности к физическим нагрузкам из-за невозможности поддерживать адекватное внешнее дыхание и превалирования поверхностного типа дыхания. Эти изменения усиливают системную гипоксию и активируют симпатическую часть вегетативной нервной системы. Таким образом, морфофункциональное состояние диафрагмы вносит существенный вклад в прогрессирование ХСН. Исследования, выполненные в последние годы, привели к открытию роли функции сфинголипидов, играющих важную роль в передаче сигнала мышечной ткани, роли дегенеративных изменений в структуре n. phrenicus в изменении функционального состояния диафрагмы. Однако доминирующая роль в перестройке диафрагмы принадлежит процессам снижения количества мышечной массы и увеличения количества коллагена. Следствием этих изменений становится хроническая утомленность оставшейся в диафрагме мышечной массы и прогрессирование ее функциональной недостаточности [3, 4]. Важно отметить, что изменения в поперечнополосатой мускулатуре конечностей не идентичны изменениям в диафрагмальной мышце, развиваются намного раньше и быстрее, чем соответствующие изменения в мускулатуре конечностей или наружных дыхательных мышцах [5, 6]. Изменения в диафрагмальной мышце вносят существенный вклад в снижение качества жизни у больных с ХСН уже на начальных стадиях развития болезни, так как начинают проявляться задолго до появления дефицита тощей массы тела [7]. До настоящего времени не проводились исследования, подтвердившие предполагаемую связь между прижизненными параметрами внешнего дыхания, в частности величиной развиваемого максимального давления на вдохе, и морфологическими изменениями в диафрагме.

Цель исследования: изучить и сопоставить изменения в объемах мышечной, жировой, соединительной ткани у больных с ХСН разных функциональных классов (ФК) в диафрагме, правом желудочке (ПЖ), нижней конечности. Проследить динамику фибробластов и соединительной ткани.

Изучить морфологические изменения в мышечной структуре диафрагмы и сопоставить их с некоторыми прижизненными параметрами внешнего дыхания, в частности с величиной максимального давления, развиваемого на вдохе, с одновременным измерением ее амплитуды при помощи ультразвукового исследования (УЗИ).

Материалы и методы

В основе исследования лежит сопоставление морфологических изменений в диафрагмальной мышце, выявленных в ходе посмертного исследования, с прижизненными параметрами внешнего дыхания, в частности, с развиваемой величиной максимального давления на вдохе, позволяющей определить функциональное состояние мышц, обеспечивающих вдох, в том числе состояние диафрагмы.

Критерии включения в исследование: принадлежность к Павловскому регистру [8], соответствие его критериям и наличие ХСН I–IV ФК по NYHA; последнее прижизненное измерение функции внешнего дыхания должно быть выполнено в стабильном состоянии не позднее чем за 120 дней до летального исхода; забор биологического материала для гистологического изучения должен быть осуществлен не позднее чем через 24 ч от летального исхода.

Критерии невключения в исследование: наличие у пациента любого бронхообструктивного заболевания; интерстициального заболевания легких, патология грудной клетки, возраст пациента старше 75 лет; анемия тяжелой степени, гемодинамически значимые клапанные пороки, любая патология диафрагмы, часто рецидивирующая нижнедолевая пневмония, часто рецидивирующий гемодинамически значимый гидроторакс, пневмоторакс, наличие обтурационного ателектаза, эмфиземы легких, туберкулеза легких, напряженный асцит, нестабильная стенокардия, ранний постинфарктный период, анемия тяжелой степени, выраженные заболевания опорно-двигательного аппарата, курение, алкоголизм, наркомания, психические заболевания, длительное пребывание на искусственной вентиляции легких, онкологические заболевания, индекс массы тела (ИМТ) менее 20 кг/м^2 или более 30 кг/м^2.

Скрининговое обследование пациентов

За период с 2015 по 2018 г. в регистр были включены 759 пациентов, из них 407 выполнено исследование функции внешнего дыхания, за этот период умерли 203 пациента, из них 39 (20 мужчин и 19 женщин) отвечали критериям включения в исследование.

В 8 случаях причиной летального исхода стал инфаркт миокарда (в том числе осложненный гиповолемическим кардиогенным шоком, отеком легких, фатальными нарушениями ритма с исходом в асистолию, разрывом миокарда ЛЖ), рестеноз стента – 1, внезапная сердечно-сосудистая смерть – 4, инсульт – 7 (в том числе 1 геморрагический), массивная тромбоэмболия легочной артерии – 5, декомпенсация кровообращения – 8, пневмония длительностью более 2 нед – 6 (деструктивные формы с обширным поражением легочной ткани: очагово-сливные и абсцедирующие, осложненные токсическим шоком, отеком легких).

Время, прошедшее от момента летального исхода до забора биологического материала для последующего гистологического исследования, составило 15,1±3,2 ч.

Клиническая характеристика пациентов

Были исследованы 39 аутоптатов мышц диафрагмы, ПЖ, нижней конечности (20 мужчин и 19 женщин), в течение 24 ч после смерти. Прижизненно пациенты имели диагнозы ХСН I–IV ФК по NYHA, гипертоническая болезнь, ишемическая болезнь сердца. Все пациенты были старше 50 лет. В возрастную группу 50–65 и 65–75 лет входили соответственно 17 и 22 пациента. Клиническая картина, соответствовавшая I–II ФК по NYHA, зафиксирована у 15 пациентов, а III–IV ФК – у 24. ИМТ составил в среднем 27,1±2,45 кг/м^2. Фибрилляция предсердий, постоянная форма имелась у 11 пациентов. Продолжительность ХСН составила 7,5±3,6 года. Сравнительная характеристика пациентов по ФК ХСН приведена в табл. 1.

Между группами, сформированными в зависимости от ФК ХСН по NYHA, не было выявлено статистически значимых различий по половозрастной структуре, ИМТ, распространенности гипертонической болезни, острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК), тромбоэмболии легочных артерий. Статистически значимые различия были зафиксированы только по распространенности ишемической болезни сердца, постинфарктного кардиосклероза, пневмонии.

Пациенты получали стандартную терапию в зависимости от стадии и степени ХСН: ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента в дозе, превышающей 50% от максимальной, – 34 пациента; β-адреноблокаторы в дозе, превышающей 50% от максимальной, – 27; антагонисты минералокортикоидных рецепторов – 18; мочегонные препараты – 29; дигоксин – 9; варфарин – 8; новые пероральные антикоагулянты – 5 пациентов.

Функциональную способность пациентов оценивали также по тесту с 6-минутной ходьбой.

Исследование биологических образцов тканей

Материалы аутоптатов диафрагмы забирали из грудинной части, сухожильного центра, реберной части, поясничной части. Морфологические изменения в диафрагмальной мышце сравнивали с изменениями в икроножной мышце и миокарде ПЖ. Аутоптаты фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине, дегидратировали и заключали в парафин по стандартной методике. С помощью микротома получали срезы толщиной 5–10 мкм. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином и по Ван Гизону. Затем с помощью сканера гистологических стекол Leica Aperio AT2 производили оцифровку и воспроизведение на монитор электронной копии гистологического материала. В снимках микропрепарата

ISSN 0022-9040. Кардиология. 2019;59(1).

Таблица 1. Сравнительная характеристика пациентов в различных группах ФК ХСН

Параметр		ФК по NYHA					Значимость теста на наличие различий между группами*
		Все наблюдения	I	II	III	IV	
Число наблюдений		39	10	9	10	10	—
Доля женщин, %		49	50	56	40	50	0,922*
Возраст, годы	среднее значение	68,8	67,6	68,8	68,1	70,6	0,612**
	медианное значение	70,0	69,5	69,0	70,0	71,0	
	минимум	51,0	51,0	63,0	60,0	59,0	
	максимум	75,0	74,0	75,0	74,0	75,0	
ИМТ, кг/м^2	среднее значение	24,3	24,7	25,4	24,5	22,7	0,242**
	медианное значение	24,2	24,2	25,9	24,2	20,5	
	минимум	18,4	21,7	19,3	21,8	18,4	
	максимум	29,6	28,7	29,3	29,6	29,1	
Доля пациентов с заболеваниями, %	гипертоническая болезнь	100	100	100	100	100	1,000*
	ишемическая болезнь сердца	69	30	78	70	100	0,007*
	постинфарктный кардиосклероз	46	0	56	60	70	0,008*
	ОНМК	41	70	33	40	20	0,137*
	тромбоэмболия легочных артерий	13	30	11	0	10	0,240*
	пневмония	49	10	22	60	100	0,000*

* – межгрупповые сравнения, проведенные с использованием теста χ^2; ** – межгрупповые сравнения, проведенные с использованием теста Краскела–Уоллиса. ФК – функциональный класс; ХСН – хроническая сердечная недостаточность; ИМТ – индекс массы тела; ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения.

идентифицировали мышечную, жировую, соединительную ткань, фибробласты, волокна коллагена. Подсчет процентного содержания тканей и клеточных элементов производили вручную. При помощи экранного микрометра вычисляли площадь микропрепарата, рассчитывали площадь каждого волокна. Результаты суммировали и вычисляли в процентах. Исследование производили два независимых патоморфолога.

Спирометрические измерения и измерение силы дыхательных мышц выполняли с использованием эргоспирометрической системы CARDIOVIT CS-200 Ergo-Spiro в соответствии с рекомендациями Американского торакального общества [9]. Сила дыхательных мышц: максимальное давление вдоха (MIP) оценивали с использованием электронного датчика давления; MIP измеряли после максимально сильного и быстрого вдоха, произведенного после максимального выдоха до уровня остаточного объема. Результат вычисляли после проведения 3 попыток (выбирали наилучший результат), с перерывами между ними не менее 1 мин для предупреждения мышечного утомления [10, 11].

Исследование сократительной функции диафрагмы

Для определения сократительной функции диафрагмы выполняли УЗИ брюшной полости на аппарате Pure Wawe S5-1. Оценивали экскурсию мышцы на уровне верхнего края в месте изгиба диафрагмы над печенью, во время глубокого вдоха и выдоха, в положении пациента с поднятыми вверх руками, для наилучшей визуализации экскурсии диафрагмы. В области купола измеряли толщину диафрагмы. В М-режиме оценивали экскурсию диафрагмы при позиции курсора в области купола диафрагмы. Оценку на синусоиде проводили в точках максимальной и минимальной амплитуд.

Временной интервал между последним прижизненным исследованием пациента и получением биологического материала составил 56,7±11,9 дня.

Статистическая обработка материала

Обработку полученных в ходе исследования данных осуществляли с использованием статистических пакетов Statistica 10 и IBM SPSS Statistics 23. В исследовании использовали параметрические и непараметрические тесты. Анализ взаимосвязей влияния тканевой структуры диафрагмы на силу мышц вдоха осуществляли с использованием ранговой корреляции Спирмена. Сравнение независимых групп (взаимосвязь классов NYHA с тканевой структурой сердца, диафрагмы и икроножной мышцы) осуществляли с использованием критериев Краскела–Уоллиса (для проверки гипотезы об отсутствии любых различий между группами) и Манна–Уитни (для проверки отсутствия различий между отдельными парами групп). Сравнение парных выборок (показатели мышечной, соединительной и жировой ткани в разных локализациях одних и тех же пациентов) осуществляли с помощью критерия Фридмана (для проверки гипотезы об отсутствии любых различий между выборками) и критерия знаков (для проверки отсутствия различий между

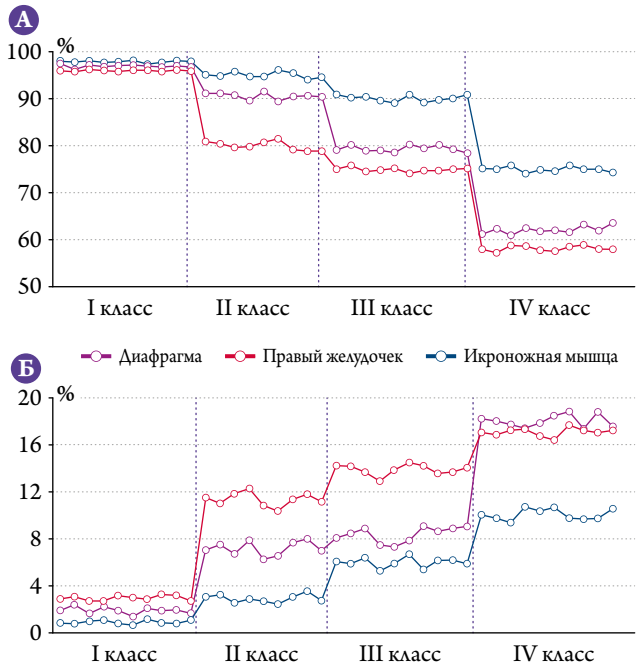

Рис. 1. Процентное содержание мышечной (А) и жировой (Б) ткани в аутоптатах диафрагмы, миокарда и поперечнополосатой мышцы при ХСН различных ФК. Каждая точка соответствует конкретному пациенту.

Здесь и на рис. 2 и 3: ХСН – хроническая сердечная недостаточность; ФК – функциональный класс.

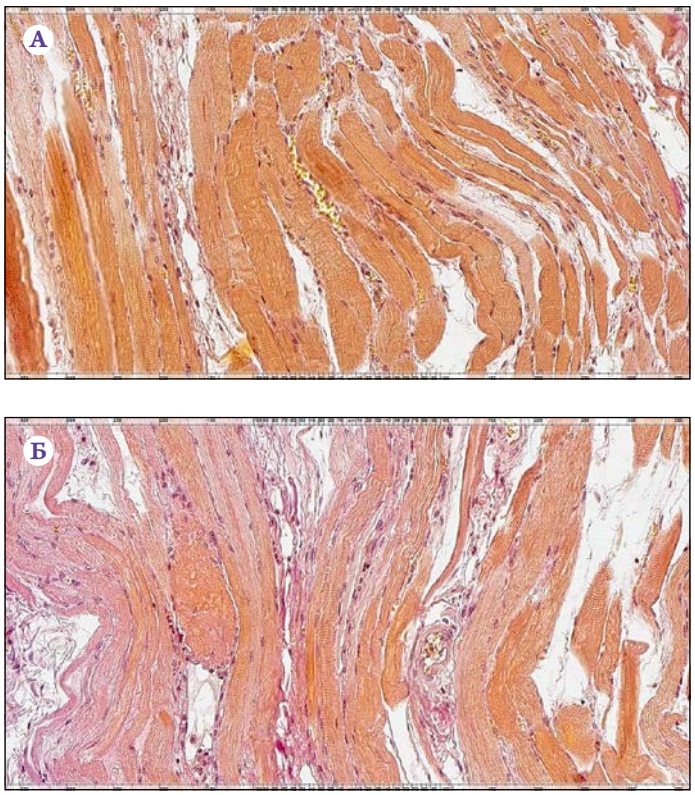

Рис. 2. Аутоптат диафрагмы при ХСН II ФК (А) и ХСН IV ФК (Б). Окраска по Ван Гизону. Ув. 400.

Объяснения в тексте.

отдельными парами переменных). Все гипотезы (помимо апостериорных сравнений) тестировали на уровне значимости 0,05. Апостериорные сравнения с помощью критерия Манна–Уитни и критерия знаков проводили с использованием поправки Бонферрони.

Результаты

1. Соотношение соединительной, мышечной и жировой ткани в гистологических препаратах диафрагмы, поперечнополосатой мышцы и миокарда ПЖ у больных с ХСН различных ФК.

Данные, представленные на рис. 1, 2, свидетельствуют, что с увеличением ФК ХСН происходят существенные изменения в трех изучаемых структурах. Так, в структуре диафрагмы отмечено прогрессирующее уменьшение объема мышечной ткани. Этот процесс развивался с меньшей скоростью и был менее выражен в поперечнополосатой мышце. Сокращение объема мышечной ткани наиболее ярко проявлялось в миокарде ПЖ, причем интенсивность процесса была одинаково высока при всех ФК. Таким образом, относительный объем мышечной ткани в аутоптатах всех изучаемых тканей обратно коррелировал с ФК ХСН. Иными словами, чем тяжелее ХСН, тем меньше относительный объем мышечной ткани в диафрагме, миокарде и икроножной мышце (см. рис. 1, А).

Одновременно со снижением содержания мышечной ткани в изучаемых образцах происходило увеличение объема жировой и соединительной ткани. Оно было наиболее выражено в миокарде ПЖ и диафрагме, а скачкообразный прирост соединительной ткани происходил у пациентов с ФК III, причем выраженность увеличения объема соединительной ткани в диафрагме превосходила этот процесс в периферической мышце и миокарде ПЖ. Однако при ФК IV увеличение объема соединительной ткани превалировало в ПЖ. Уровень ФК ХСН и относительный объем жировой и соединительной ткани в аутоптатах всех изучаемых тканей прямо коррелируют. Иными словами, чем тяжелее ХСН, тем в большей степени мышечная ткань замещается жировой и соединительной тканью (см. рис. 1, Б; табл. 2).

Выявленные различия наглядно представлены на гистологических срезах. Хорошо видно, насколько различается количество соединительной и мышечной ткани при ХСН II и IV ФК. На рис. 2 представлены гистологические препараты, стрелками отмечены мышечные волокна (красная стрелка), жировая ткань (синяя), соединительная ткань (черная).

Динамика уровня фибробластов в аутоптатах имела более сложную закономерность. Данные, представленные на рис. 3, свидетельствуют, что количество фибробластов в мышцах возрастало до III ФК ХСН – на этой

ISSN 0022-9040. Кардиология. 2019;59(1).

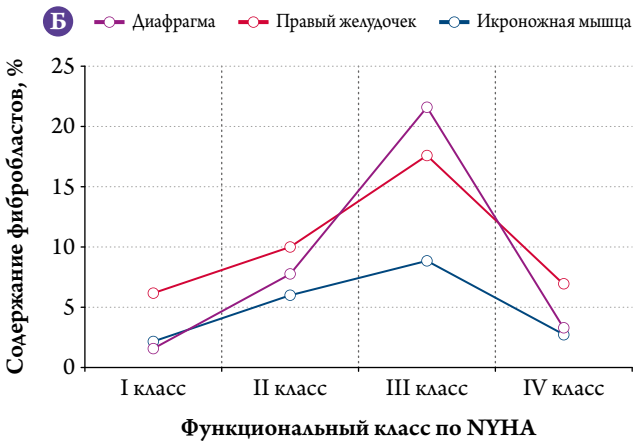

Рис. 3. Процентное содержание фибробластов в аутоптатах диафрагмы, миокарда и поперечно-полосатой мышцы при ХСН различных ФК.

стадии отмечено наибольшее их содержание – и резко уменьшалось у пациентов с ХСН IV ФК. Важно отметить, что процентное содержание мышечной ткани и фибробластов у пациентов с II и III ФК имело обратно пропорциональную связь, а у пациентов с IV ФК она приобрела другой характер, став прямо пропорциональной. Для проверки данной тенденции были проведены статистические тесты на достоверность различий между группами в целом (критерий Краскела–Уоллиса) и между всеми парами групп в частности (критерий Манна–Уитни с поправкой Бонферрони). Анализ данных с использованием критерия Краскела–Уоллиса показал, что гипотезы об отсутствии различий по объемам соединительной, мышечной и жировой ткани и фибробластов между пациентами с ХСН различных по NYHA ФК могут быть отвергнуты на уровне значимости p=0,001 для всех локализаций (диафрагма, ПЖ, икроножная мышца). Анализ попарных сравнений между ФК с применением поправки Бонферрони (p-value для 6 сравнений равняется 0,0085) показал, что во всех локализациях статистически значимы все попарные различия между классами, кроме различия по количеству фибробластов между I и IV ФК в миокарде ПЖ и икроножной мышце.

Таким образом, исходя из результатов анализа с использованием критерия Фридмана и критерия знаков, можно достоверно утверждать, что изменения в объеме мышечной ткани при ХСН всех ФК по NYHA наиболее выражены в ПЖ и диафрагме и менее выражены в икроножной мышце. Увеличение объема жировой ткани у пациентов с ХСН I–III ФК в максимальной степени выражено в ПЖ и диафрагме и менее выражено в икроножной мышце. У пациентов с ХСН IV ФК наибольший прирост объема жировой ткани регистрируется в диафрагме. Изменение объема соединительной ткани не подчиняется линейной зависимости. Наибольший, скачкообразный прирост объема соединительной ткани происходил у пациентов с ХСН III ФК в диафрагме, что статистически значимо опережает этот процесс в периферических мышцах и ПЖ, в то время как при IV ФК превалирует соединительная ткань в ПЖ.

2. Взаимосвязь между объемами мышечной и соединительной ткани в диафрагме и силой мышц вдоха.

Данная взаимосвязь изучалась в ходе сопоставления результатов, полученных при гистологическом исследовании аутоптатов диафрагмы, с максимальной толщиной диафрагмальной мышцы на высоте вдоха, измеренной прижизненно ультразвуковым методом, а также с максимальным давлением на вдохе. Максимальная толщина купола диафрагмы отражает ее способность принимать полноценное участие во внешнем дыхании, гарантируя увеличение объема вдоха, пропорциональное росту нагрузки. Просматривалась тенденция, что чем меньше толщина диафрагмальной мышцы на высоте вдоха, тем меньше объем вдыхаемого воздуха и ниже способность пациента увеличить объем физической нагрузки.

Графически взаимосвязи между объемами соединительной и мышечной ткани и максимальной толщиной диафрагмальной мышцы на высоте вдоха (это понятие можно рассматривать, как синоним понятия «сила мышцы») представлены на рис. 2, Б и 3. Данные, представленные на рис. 4, А, свидетельствуют, что чем больше относительный объем соединительной ткани в аутоптате, тем меньше максимальная толщина диафрагмальной мышцы на максимальном вдохе. При относительном объеме соединительной ткани 20% и более максимальная толщина достигает критически низкой, равной 2 мм, что свидетельствует о практически полном отсутствии участия диафрагмы во внешнем дыхании. На рис. 4, Б представле-

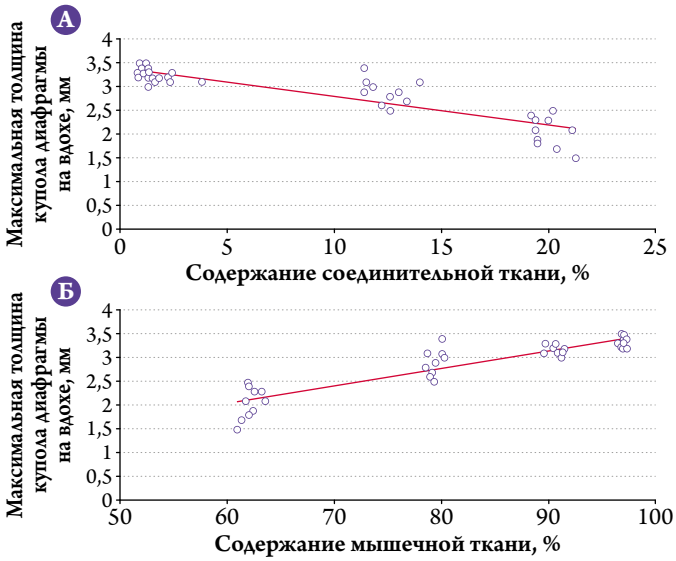

Рис. 4. Максимальная толщина купола диафрагмы в зависимости от объема соединительной (А) и мышечной (Б) ткани в аутоптате диафрагмы.

на взаимосвязь относительного объема мышечной ткани и максимальной толщины диафрагмальной мышцы на глубине вдоха. Данные, представленные на этом рисунке, показывают, что между изучаемыми величинами имеется прямая корреляция. Иными словами, чем больше сохранено мышечной ткани, тем больше вклад диафрагмальной мышцы в полноценное внешнее дыхание и возможность увеличить объем вдоха пропорционально приросту объема физической нагрузки. Для подтверждения взаимосвязей были построены непараметрические (ранговые) корреляции Спирмена. В обеих корреляциях был зафиксирован достоверный коэффициент корреляции более 0,85 и статистически значимая устойчивая взаимосвязь между переменными; для относительного объема мышечной ткани в аутоптате коэффициент корреляции равен 0,88 ($p<0,01$), для относительного объема соединительной ткани в аутоптате – 0,87 ($p<0,01$). Важно отметить, что ни в одном из случаев максимальная толщина диафрагмальной мышцы на максимальном вдохе не достигла 4 мм, что соответствует нормальному уровню, а ¾ пациентов с ХСН III и IV ФК имели толщину, близкую к 2 мм, т. е. к критически низкому уровню.

Еще одним параметром, отражающим функциональное состояние диафрагмальной мышцы, является максимальное давление, развиваемое пациентом на вдохе в положении лежа с поднятыми вверх руками, что исключает влияние дыхательной мускулатуры. На рис. 5 представлены индивидуальные колебания максимального давления на вдохе с содержанием мышечной, жировой и соединительной ткани в аутоптатах. Анализ данных показывает, что максимальное давление на вдохе имеет прямую тесную корреляцию с объемом мышечной ткани в аутоптате и обратную – с объемом жировой и соединительной ткани. В наибольшей степени максимальное давление на вдохе снижается у пациентов с ХСН III ФК, оставаясь низким у пациентов с IV ФК.

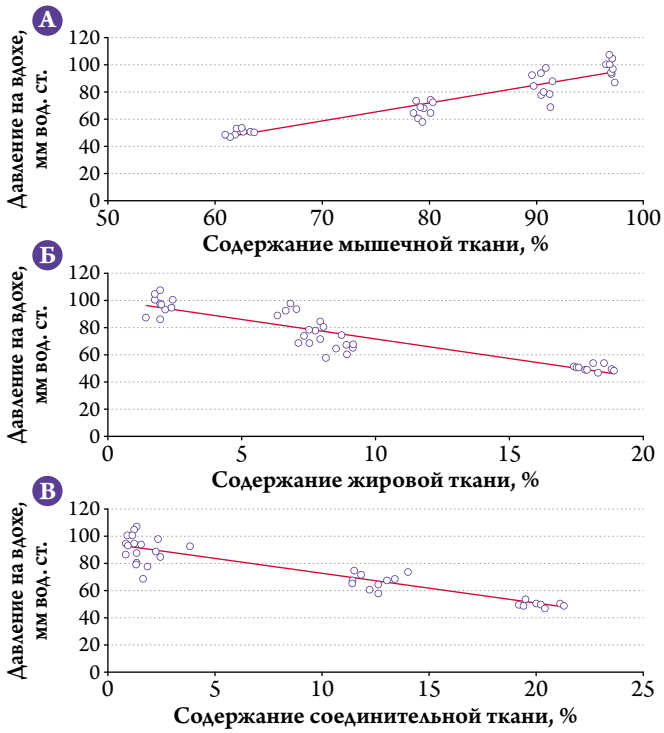

Рис. 5. Показатели мышечной (А), жировой (Б) и соединительной (В) ткани и давления на вдохе у участников исследования (одна точка – одно наблюдение).

Обсуждение

Вдох является результатом движений диафрагмы и грудных мышц, обусловливающих изменение объема грудной полости. При вдохе уплощение купола диафрагмы, увеличение объема легких и одновременное повышение внутрибрюшного давления выдавливают кровь в нижнюю полую вену, что гарантирует постоянный отток венозной крови в правое предсердие. Косвенно функциональное состояние мышц, обеспечивающих вдох, в том числе состояние диафрагмы, можно оценить по величине максимального давления, создаваемого пациентом при дыхании, как через рот, так и через нос [10]. Следует признать, что такая оценка во многом упрощает ситуацию, так как не оценивает вклад изменений в n. phrenicus и нарушений в нервно-мышечном аппарате. Известно, что максимальное давление на вдохе зависит от возраста и пола пациента. Так, в работе [12] установлено, что в возрасте 20–39 лет средние уровни развиваемого максимального давления на вдохе у здоровых людей составляли у мужчин 91,1±28,6 см вод. ст., у женщин 67,0±20,2 см вод. ст.; в возрасте старше 40 лет – соответственно 82,8±26,6 и 59,3±18,8 см вод. ст. Значительно меньшие величины максимального давления на вдохе развивают пациенты при следующих хронических заболеваниях: хроническая обструктивная болезнь легких, ожирение, нейромышечная дистрофия, пороки клапанного аппарата сердца, поражение мышц грудной клетки. В нашем исследовании приведенные факторы и нозологические состояния, влияющие на величину максимального давления на вдохе, явились критериями исключения, так как целью нашего исследования было изучение влияния морфологической перестройки диафрагмальной мышцы на величину MIP у больных с ХСН различных ФК.

В исследовании проводилось сопоставление морфологических изменений в диафрагме с величиной MIP, изменениями в поперечнополосатой мускулатуре и мышце ПЖ. Такое сопоставление было необходимо для оценки одномоментности и однонаправленности изменений в мышце диафрагмы, поперечнополосатой мускулатуре и мышце ПЖ.

Полученные нами данные позволяют констатировать, что снижение объемного содержания мышечной массы

ISSN 0022-9040. Кардиология. 2019;59(1).

Таблица 2. Процентное содержание соединительной ткани в аутоптатах диафрагмы, миокарда и поперечнополосатой мышцы при ХСН различных ФК

Параметр	Все наблюдения	ФК по NYHA			
		I	II	III	IV
Диафрагма					
Среднее значение	9,0	1,1	2,0	12,4	20,0
Медиана	11,4	1,1	1,8	12,4	19,8
Минимум	0,8	0,8	1,3	11,4	19,2
Максимум	21,3	1,3	3,8	14,0	21,3
Стандартное отклонение	8,0	0,2	0,8	0,9	0,7
ПЖ					
Среднее значение	11,3	0,9	8,4	10,9	24,7
Медиана	9,9	0,9	8,4	10,9	24,8
Минимум	0,8	0,8	7,5	9,9	23,8
Максимум	26,0	1,2	9,3	12,0	26,0
Стандартное отклонение	8,8	0,1	0,6	0,6	0,8
Нижняя конечность					
Среднее значение	5,6	1,1	1,9	4,1	14,8
Медиана	2,5	1,2	1,8	4,0	14,8
Минимум	0,8	0,8	1,4	2,3	14,4
Максимум	15,2	1,3	2,5	5,3	15,2
Стандартное отклонение	5,7	0,2	0,4	1,0	0,3

ФК – функциональный класс; ХСН – хроническая сердечная недостаточность; ПЖ – правый желудочек.

и увеличение объемного содержания соединительной ткани в диафрагме развивались с меньшей скоростью и имели меньшую выраженность, чем в мышце ПЖ, однако были более выражены, чем в поперечнополосатой мышце (см. табл. 2).

Процентное содержание соединительной ткани в аутоптатах диафрагмы, миокарда и поперечнополосатой мышцы при различных ФК ХСН

Согласно данным, приведенным на рис. 5, Б, морфологические изменения в диафрагме достоверно коррелировали с максимальным давлением на вдохе.

В работе J. Steier и соавт. [13] было установлено, что при хронических заболеваниях, вовлекающих в процесс дыхательную мускулатуру, максимальное давление на вдохе снижается, достигая 44,8 и 31,6 см вод. ст. соответственно у мужчин и женщин. В работах P. L. Enright и соавт. [14, 15] и K. Tolep и соавт. [16] установлено, что в возрасте 25–65 лет происходит постепенное снижение максимального давления на вдохе, примерно на 30%. В возрасте старше 80 лет максимальное давление на вдохе снижается на 60–70%. Этот процесс обусловлен саркопенией, и в старших возрастных группах приобретает уровень клинически значимого ухудшения функции внешнего дыхания. Пациенты, принимавшие участие в нашем исследовании, находились в возрасте 55–70 лет, что позволило минимизировать влияние возрастной саркопении на показатели силы мышц вдоха.

Можно предполагать, что быстро развивающееся нарушение функции внешнего дыхания на фоне морфологической перестройки в диафрагмальной мышце, а также анализ степени выраженности морфологических и функциональных изменений в зависимости от класса ХСН имеет практическое значение, поскольку позволит выбирать индивидуальную программу дыхательных тренировок в рамках реабилитации пациента, основываясь на показателе MIP. Важно помнить, что тренировки не могут изменить соотношение быстрых и медленных волокон, а активность АТФазы, определяющая высвобождение энергии из АТФ, наследуется. Однако тренировки на выносливость могут изменить способ получения энергии, приводя к переходу быстрых мышечных волокон из гликолитических в промежуточные, для которых характерен окислительно-гликолитический способ получения энергии.

Важно отметить, что выраженность дисфункции диафрагмы зависит не от нозологии и генеза ХСН [17–19], а, как показали наши данные, только от процентного содержания жировой, мышечной и соединительной ткани.

Из ранее проведенных работ известно, что толщина диафрагмы менее 4 мм свидетельствует о нарушении функции диафрагмы и тесно коррелирует с величиной максимального давления на вдохе [20]. Снижение максимальной толщины диафрагмы в конце вдоха менее 3,9 мм ассоциировалось с достоверно меньшим расстоянием, пройденным при тесте с 6-минутной ходьбой, и худшим прогнозом для пациента [21]. В нашем исследовании получены данные о том, что толщина диафрагмы зависит от объема в ней мышечной и соединительной ткани. Таким образом, при увеличении процента соединительной ткани и уменьшении мышечной ткани в диафрагме развивается ее дисфункция – поверхностный тип дыхания, что приводит к активации симпатической части вегетативной нервной системы, повышению риска развития фатальных аритмий и невозможности осуществить полноценный кашлевой толчок, нарушению клиренса мокроты и созданию условий для пневмонии [22]. Кроме того, это ведет к изменению отношения объема мертвого пространства к дыхательному объему (VD/VT в норме 0,3). Чем больше нарушена функция диафрагмы, тем меньше дыхательный объем, а значит больше абсолютное значение коэффициента мертвого пространства. Вентиляция мертвого пространства составляет 30% от дыхательного объема и альвеолярная вентиляция – около 70%. Спонтанное дыхание становится невозможным при повышении коэффициента мертвого пространства до 0,7–0,8, поскольку увеличивается дыхательная работа (из-за поверхностного дыхания возрастает частота дыхательных движений),

а CO_2 накапливается в бóльшем количестве, чем может быть удалено. Рост абсолютных значений коэффициента мертвого пространства имеет бóльшее прогностическое значение для оценки тяжести течения ХСН, чем уровень максимального потребления кислорода ($VO_{2\,max}$) [23].

В многочисленных работах установлено, что дисфункция диафрагмы развивается независимо от величины ФВ [24] и не подвергается изменениям после трансплантации сердца [25]. Приведенные данные позволяют считать, что дисфункция диафрагмы, обусловленная морфофункциональной перестройкой мышцы, становится самостоятельным звеном в патогенезе прогрессирования ХСН.

В проведенном исследовании мы получили нелинейную прогрессию увеличения соединительной ткани в диафрагмальной мышце. При ХСН III ФК происходит пикообразное усиление процесса возрастания соединительной ткани с продолжением процесса в IV ФК.

Следует отметить, что в мышце ПЖ происходят значительные усиления в прогрессировании соединительной ткани уже при ХСН II ФК с последующим линейным усилением процесса в III ФК и вновь пикообразным усилением процесса в IV ФК.

Процесс, протекающий в поперечнополосатой мускулатуре, радикально отличается от описанных выше. Он носит линейный характер вплоть до IV ФК, когда у пациентов отмечается параллелизм во всех трех изучаемых мышцах.

Практическая значимость работы

Проведенное нами клинико-морфологическое сравнение позволяет предполагать, что фактором, ограничивающим любое воздействие на функциональное состояние диафрагмальной мышцы, является степень ее морфологической перестройки. Данные об измененных соотношениях мышечной и соединительной ткани служат основой для коррекции принципов реабилитационных тренировок. Выраженное снижение процентного содержания мышечной ткани и повышение – соединительной ткани не позволят тренировкам влиять на прирост или сохранение максимального давления на вдохе. В такой ситуации наибольший успех, а именно максимально долгое сохранение существующего уровня внешнего дыхания пациента, можно предполагать при применении тренировок по преодолению сопротивления на вдохе и выдохе. Такие тренировки [26], как низко-, так и среднедозовые, рассматриваются как стандарт в лечении пациентов с ХСН [27]. Механизм влияния тренировок по преодолению сопротивления на морфологические изменения диафрагмы неизвестен, однако в проспективном исследовании H. Souza и соавт. [28] показано, что такие тренировки приводят к увеличению максимальной толщины диафрагмальной мышцы при ее сокращении так же, как и у здоровых пожилых людей. Можно предполагать, что наиболее вероятный механизм развития таких изменений обусловлен развивающейся гипертрофией оставшихся и функционирующих мышечных волокон.

Однозначного вывода по влиянию тренировок дыхательной мускулатуры на функциональное состояние диафрагмы в настоящее время не может быть сделано, но логично считать, что они будут эффективны там, где соотношение мышечная ткань: соединительная ткань заведомо больше, чем 80:20.

Ограничения исследования

Исследование одноцентровое. В исследование включены всего 39 пациентов. В нем сравнивались данные инструментальных исследований пациентов с результатами посмертного гистологического исследования, отстоящие друг от друга по времени на срок до 90 дней (среднее время 56,7±11,9 дня).

Не изучалось влияние продолжительности ХСН на выявление изменения в диафрагмальной мышце, так как длительность ХСН у включенных пациентов была не менее 3 и не более 7 лет, что не позволяет перенести полученные данные на другой интервал продолжительности болезни.

Вклад авторов в выполнение исследования:
Арутюнов А.Г., Арутюнов Г.П., Ильина К.В., Колесникова Е.А. являются авторами идей и разработчиками дизайна исследования, авторами текста статьи, осуществляли клиническую работу по включению пациентов в регистр, формировали базы данных в исследовании; Тулякова Э.В., Кулагина Н.П. вели клиническую работу, проводили лабораторные исследования, включали пациентов в Павловский регистр, формировали базы данных в исследовании; Пчелин В. В. проводил посмертное исследование, готовил гистологические препараты и проводил их анализ; Токмин Д.С. проводил статистическую обработку результатов исследования.

Благодарности
Коллектив авторов выражает искреннюю благодарность за оказанную помощь в интерпретации морфологического материала заведующей кафедрой патологической анатомии педиатрического факультета РНИМУ им. Н.И. Пирогова Е.Л. Тумановой, сотруднику департамента клинической патологии, руководителю отдела цифровой микроскопии и информационных систем ООО ОПЭК ZEISS Group Спиридонову Михаилу Борисовичу, а также сотрудникам иммуногистохимической лаборатории UNIM, Технопарк Сколково Гречишкину А.Н., Журавлеву А.С. независимым экспертам в оценке гистологических препаратов.

Information about the author:

Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Ilyina Kseniya V. – cardiologist.

E-mail: doc.ksenia@gmail.com

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Elliott J.E., Greising S.M., Mantilla C.B., Sieck G.C. Functional impact of sarcopenia in respiratory muscles. Respir Physiol Neurobiol 2015 DOI: 10.1016/j.resp.2015.10.001.
2. Cacciani N., Ogilvie H., Larsson L. Age related differences in diaphragm muscle fiber response to mid/long term controlled mechanical ventilation. Exp Gerontol 2014;59:28–33. DOI: 10.1016/j.exger.2014.06.017.
3. Sieck G.C., Ferreira L.F., Reid M.B., Mantilla C.B. Mechanical properties of respiratory muscles. Compr Physiol 2013;3(4):1553–1567. DOI: 10.1002/cphy.c130003.
4. Hooijman P.E., Beishuizen A., Witt C.C. et al. Diaphragm muscle fiber weakness and ubiquitin-proteasome activation in critically ill patients. Am J Respir Crit Care Med 2015;191(10):1126–1138. DOI: 10.1164/rccm.201412-2214OC.
5. Lindsay D.C., Lovegrove C.A., Dunn M.J. et al. Histological abnormalities of muscle from limb, thorax and diaphragm in chronic heart failure. Eur Heart J 1996;17(8):1239–1250.
6. Stassijns G., Lysens R., Decramer M. Peripheral and respiratory muscles in chronic heart failure. Eur Respir J 1996;9(10):2161–2167.
7. Kinugawa S., Takada S., Matsushima S. et al. Skeletal muscle abnormalities in heart failure. Int Heart J 2015;56:475–484.
8. Arutyunov A. G., Rylova A. K., Arutyunov G. P. The register of hospitalized patients with circulatory decompensation (Pavlovsky register). First report. Modern clinical characteristics of patients with circulatory decompensation. Clinical phenotypes of patients. Heart Failure J 2014;15;1(82):23–32. Russian (Арутюнов А.Г., Рылова А.К., Арутюнов Г.П. Регистр госпитализированных пациентов с декомпенсацией кровообращения (Павловский регистр). Сообщение 1. Современная клиническая характеристика пациента с декомпенсацией кровообращения. Клинические фенотипы пациентов. Журнал Сердечная Недостаточность 2014;15;1(82):23–32.)
9. Lung function testing: selection of reference values and interpretative strategies. American Thoracic Society. Am Rev Respir Dis 1991;144:1202–1218.
10. ATS/ERS Statement on respiratory muscle testing. Am J Respir Crit Care Med. 2002;166:518–624.
11. Black L.F., Hyatt R.E. Maximal respiratory pressures: normal values and relationship to age and sex. Am Rev Respir Dis 1969;99:696–702.
12. Obando L.M.G., López A.L., Ávila C.L. Normal values of the maximal respiratory pressures in healthy people older than 20 years old in the City of Manizales – Colombia Colomb Med (Cali) 2012;43(2):119–125.
13. Steier J., Kaul S., Seymour J. et al. The value of multiple tests of respiratory muscle strength. Thorax 2007;62(11):975–980. DOI: 10.1136/thx.2006.072884.
14. Enright P.L., Adams A.B., Boyle P.J., Sherrill D.L. Spirometry and maximal respiratory pressure references from healthy Minnesota 65- to 85-year-old women and men. Chest 1995;108(3):663–669.
15. Enright P.L., Kronmal R.A., Manolio T.A. et al. Respiratory muscle strength in the elderly. Correlates and reference values. Cardiovascular Health Study Research Group. Am J Respir Crit Care Med 1994;149(2 Pt 1):430–438. DOI: 10.1164/ajrccm.149.2.8306041.
16. Tolep K., Higgins N., Muza S. et al. Comparison of diaphragm strength between healthy adult elderly and young men. Am J Respir Crit Care Med 1995;152(2):677–682. DOI: 10.1164/ajrccm.152.2.7633725.
17. Dall'ago P., Chiappa G.R., Guths H. et al. Inspiratory muscle training in patients with heart failure and inspiratory muscle weakness: a randomized trial. J Am Coll Cardiol 2006;47(4):757–763.
18. Ribeiro J.P., Chiappa G.R., Neder J.A., Frankenstein L. Respiratory muscle function and exercise intolerance in heart failure. Curr Heart Fail Rep 2009;6(2):95–101.
19. Tager T., Schell M., Cebola R. et al. Biological variation, reference change value (RCV) and minimal important difference (MID) of inspiratory muscle strength (PImax) in patients with stable chronic heart failure. Clin Res Cardiol 2015;104(10):822–830. DOI: 10.1007/s00392-015-0850-3.
20. Yamada K., Kinugasa Y., Sota T. et al. Inspiratory Muscle Weakness is Associated With Exercise Intolerance in Patients With Heart Failure With Preserved Ejection Fraction: A Preliminary Study. J Card Fail 2016;22(1):38–47. DOI: 10.1016/j.cardfail.2015.10.010.
21. Mancini D.M., Henson D., LaManca J., Levine S. Respiratory muscle function and dyspnea in patients with chronic congestive heart failure. Circulation 1992;86 (3):909–918.
22. Manning H.L., Schwartzstein R.M. Pathophysiology of dyspnea. N Engl J Med 1995;333(23):1547–1553.
23. Woods P.R., Olson T.P., Frantz R.P., Johnson B.D. Causes of breathing inefficiency during exercise in heart failure. J Card Fail 2010;16(10):835–842. DOI: 10.1016/j.cardfail.2010.05.003. S1071-9164(10)00209-5 [pii]
24. Ponikowski P., Francis D.P., Piepoli M.F. et al. Enhanced ventilatory response to exercise in patients with chronic heart failure and preserved exercise tolerance: marker of abnormal cardiorespiratory reflex control and predictor of poor prognosis. Circulation 2001;103 (7):967–972.
25. Mor A., Thomsen R.W., Ulrichsen S.P., Sorensen H.T. Chronic heart failure and risk of hospitalization with pneumonia: a population-based study. Eur J Intern Med 2013;24(4):349–353. DOI: 10.1016/j.ejim.2013.02.013. S0953-6205(13)00079-4 [pii]
26. Cahalin L.P., Arena R., Guazzi M. et al. Inspiratory muscle training in heart disease and heart failure: a review of the literature with a focus on method of training and outcomes. Expert Rev Cardiovasc Ther 2013;11(2):161–177. DOI: 10.1586/erc.12.191.
27. Kawauchi T.S., Umeda II.K., Braga L.M. et al. Is there any benefit using low-intensity inspiratory and peripheral muscle training in heart failure? A randomized clinical trial. Clin Res Cardiol 2017;106(9):676–685. DOI: 10.1007/s00392-017-1089-y
28. Souza H., Rocha T., Pessoa M. et al. Effects of inspiratory muscle training in elderly women on respiratory muscle strength, diaphragm thickness and mobility. J Gerontol A Biol Sci Med Sci 2014;69(12):1545–1553. DOI: 10.1093/gerona/glu182.

Поступила 03.09.18 (Received 03.09.18)