

На правах рукописи

ДАНИЛОВА

Галина Анатольевна

**РОЛЬ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ЦИТОКИНА ИНТЕРЛЕЙКИНА-1БЕТА В
ХЕМОРЕЦЕПТОРНЫХ МЕХАНИЗМАХ РЕГУЛЯЦИИ ДЫХАНИЯ**

03.03.01 - физиология

АВТОРЕФЕРАТ

Диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Санкт-Петербург

2014

Работа выполнена в лаборатории физиологии дыхания
Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт физиологии
им. И.П. Павлова РАН».

Научный руководитель: доктор биологических наук
Александрова Нина Павловна

Официальные оппоненты: **Миняев Владимир Иванович**, профессор,
доктор биологических наук, профессор кафедры
биологии ФГБОУ ВПО «Тверской
государственный университет».

Вёгош Александр Николаевич, доктор
биологических наук, ведущий научный
сотрудник ФГБУН «Институт эволюционной
физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова
РАН»

Ведущая организация: ФГБОУ ВПО «Самарский государственный
университет»

Защита диссертации состоится 24 марта 2014 г. в 13.00 часов на заседании
Диссертационного совета по защите докторских и кандидатских диссертаций
(Д002.020.01) при Институте физиологии им. И.П. Павлова РАН (199034, Санкт-Петербург,
наб. Макарова, д.6)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института физиологии
им. И.П. Павлова РАН

Автореферат разослан “ ____ ” февраля 2014 г.

Ученый секретарь Диссертационного
совета доктор биологических наук

Н.Э. Ордян

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы.

В настоящее время установлено, что в организме человека и животных происходит взаимодействие иммунной и нервной систем с помощью особых белковых молекул – цитокинов. Изначально цитокины рассматривались как медиаторы, обеспечивающие паракринное или аутокринное взаимодействие между клетками иммунной системы. Однако в последствии оказалось, что экспрессия цитокинов, а также их рецепторов не ограничена только иммунной системой. Они могут продуцироваться во многих органах и тканях, включая центральную нервную систему (Wong, Licinio, 1994; Breder et al., 1994; Quan et al., 1996; Rothwell et al., 1996). Попадая в циркуляторное русло, цитокины оказывают гормоноподобное действие на отдаленные клетки-мишени, образуя единую сигнальную сеть. Поэтому в настоящее время цитокины выделяются в самостоятельную систему регуляции защитных реакций организма и нормальных физиологических функций, тесно связанную с нервной и эндокринной системами регуляции (Кетлинский, Симбирцев, 2008).

Благодаря нейрофизиологическим исследованиям на сегодняшний день сформулированы достаточно четкие представления о механизмах регуляции дыхания (Richter, Ballantyne, 1983; Long, Duffin, 1986; Ezure, Tanaka, 1996; Пятин, Никитин, 1998; Сафонов, 2006; Меркулова и др., 2007). Интенсивно изучается нейрхимическая организация дыхательного центра, исследуется роль различных медиаторов и модуляторов в центральном контроле дыхания (Инюшкин, 1998, 2001). Однако об участии цитокинов в механизмах регуляции дыхания почти ничего не известно. Вместе с тем установлено, что цитокины играют важную роль в нейро-иммунных взаимодействиях, участвуя в межклеточной коммуникации в качестве нейромодуляторов, оказывающих прямое или опосредованное действие на клетки центральной нервной системы (Dantzer et al., 2000; Bajetto et al., 2002; Minami et al., 2006; Мюльберг, Гришина, 2006; Филиппова, Ноздрачев, 2007). Это дает основание предполагать участие цитокинов в центральной регуляции различных физиологических функций, в том числе и функции дыхания.

Возможность участия цитокинов в контроле дыхания подтверждается и результатами иммуногистохимических исследований, которые показали наличие экспрессии цитокинов и их рецепторов в ядре солитарного тракта и вентролатеральном отделе продолговатого мозга, т.е. в тех областях ствола, которые принимают непосредственное участие в управлении дыханием (Hansen, et al., 1998; Nadeau, Rivest, 1999; Churchill et al., 2006). Кроме того, в последние годы были получены некоторые экспериментальные факты, которые дают основания для предположений об участии провоспалительных цитокинов в хеморефлекторных механизмах регуляции дыхательной функции. Так было показано, что провоспалительные цитокины (ИЛ-1 β , ФНО- α , ИЛ-6), а также их рецепторы экспрессируются в гломусных клетках каро-

тидного тела (Wang et al., 2006; Zang et al., 2007; Fernandez et al., 2011), выполняющего хеморецепторную функцию. Повышение уровня провоспалительных цитокинов модифицирует активность синусного нерва (Fernandez et al., 2008; Gauda et al., 2013), передающего афферентную импульсацию от периферических хеморецепторов в дыхательный центр, а также резко увеличивает частоту и тяжесть апноэ у младенцев с инфекционными заболеваниями (Froen et al., 2002; Hofstetter et al., 2008). Предполагается, что основной причиной этого является изменение гипоксической хемочувствительности, вызванное резким повышением уровня ИЛ-1 β во время ранней стадии воспаления (Hofstetter et al., 2007; Gauda et al., 2013). Значительный подъем церебрального и системного уровня провоспалительных цитокинов, наблюдается также при различных видах стресса, в условиях гипоксии, при увеличении нагрузки на дыхательную систему, при травмах головного мозга, инсультах и ишемии (Vgontzas et al., 2000; Godoy et al., 2003; Koechlin et al., 2004; Minami et al., 2006; Vassilakopoulos et al., 2007). С другой стороны, при таких условиях часто наблюдаются изменение паттерна дыхания, снижение вентиляторной чувствительности к гипоксии и гиперкапнии, развитие патологических типов дыхания (апнейзисы, гаспинги).

В связи с вышеперечисленными фактами актуальным является исследование возможных последствий увеличенной продукции провоспалительных цитокинов и механизмов их влияния на функцию дыхания. При этом приоритетным направлением является изучение роли цитокинов в механизмах гиперкапнической и гипоксической хеморецепции, так как они лежат в основе регуляции функции дыхания и формирования адаптивных реакций дыхательной системы (Бреслав, Ноздрачев, 2005). К тому же до сих пор нет ясности в том, как реализуются респираторные влияния провоспалительных цитокинов, могут ли они участвовать в рефлекторных механизмах регуляции дыхания, оказывать активирующие или угнетающее действие на вентиляционную функцию легких, модифицировать чувствительность дыхательной системы к изменению газового состава крови.

Цели и задачи исследования.

Целью настоящей работы явилось изучение влияния провоспалительного цитокина интерлейкина-1бета (ИЛ-1 β) на хеморецепторные механизмы регуляции дыхания анестезированных крыс.

Для достижения цели исследования были поставлены следующие задачи:

1. Исследовать влияние экзогенного повышения системного и церебрального уровня ИЛ-1 β на фоновые параметры внешнего дыхания: частоту дыхания, дыхательный объем, минутную вентиляцию легких, среднюю скорость инспираторного потока.
2. Выяснить возможность модуляции интерлейкином-1 β вентиляторной чувствительности к гиперкапнии.
3. Изучить характер влияния ИЛ-1 β на вентиляторную чувствительность к гипоксии.

4. Сравнить респираторные эффекты ИЛ-1 β при его системном (внутривенном) и церебральном (интравентрикулярном) введении.

5. Исследовать влияние ИЛ-1 β на гипоксический и гиперкапнический вентиляторный ответ на фоне действия диклофенака, ингибитора синтеза простагландинов, как предполагаемых посредников в реализации респираторных ответов на действие ИЛ-1 β .

Научная новизна работы.

Представленная работа посвящена изучению роли иммунной системы в регуляции физиологических функций организма. Она способствует разработке нового направления исследований в области физиологии дыхания – изучению нейро-иммунных механизмов регуляции респираторной функции. Это первая экспериментальная работа, в которой прямо показано участие провоспалительных цитокинов, медиаторов иммунной системы, в рефлекторных механизмах регуляции дыхания.

Впервые установлено, что повышение уровня провоспалительных цитокинов в организме оказывает ингибирующее влияние на вентиляторную чувствительность к изменению газового состава крови, вызывая тем самым снижение резервных возможностей дыхательной системы. Показано, что повышение церебрального уровня ИЛ-1 β снижает вентиляторную чувствительность к гиперкапнической и гипоксической стимуляции дыхания, тогда как увеличение содержания ИЛ-1 β в плазме крови ослабляет только гипоксический вентиляторный ответ.

Впервые показано, что в основе иммуномодуляции дыхательных хеморефлексов лежит усиление экспрессии простагландинов, вызванное цитокин-рецепторным взаимодействием. Получены новые приоритетные данные, прямо указывающие на участие простагландинов, как передатчиков цитокинового сигнала, в модуляции хеморецепторных ответов на гипоксический и гиперкапнический стимулы.

Полученные результаты позволили разработать обобщающую схему действия провоспалительного цитокина ИЛ-1 β на дыхание, в основе которой лежит изменение состояния центральных и периферических хеморецепторов и ослабление хеморецепторной активации инспираторных нейронов дыхательного центра, которые формируют центральную инспираторную активность, определяющую интенсивность работы дыхательных мышц и вентиляции легких.

Теоретическое и практическое значение работы.

Полученные экспериментальные данные способствуют решению фундаментальной проблемы физиологии человека и животных – выяснению механизмов нейроиммунного взаимодействия и участия иммунной системы в регуляции физиологических функций. Результаты исследования дают начало развитию новых представлений о механизмах регуляции вентиляционной функции легких и формировании компенсаторных реакций дыхательной

системы на изменение газового состава крови, указывая на участие в этих процессах медиаторов иммунной системы – цитокинов.

Полученные данные имеют не только фундаментальное, но и практическое значение. Они показывают, что в основе нарушения хеморецепторной чувствительности при хронической обструктивной болезни легких может лежать наблюдаемое у этих больных увеличение уровня провоспалительных цитокинов, что предполагает эффективность терапевтического использования антиоксидантов и препаратов, снижающих уровень провоспалительных цитокинов и/или ингибирующих их активность.

Результаты проведенного исследования показывают также, что существенный вклад в механизм внезапной остановки дыхания у недоношенных младенцев с инфекционными заражениями (синдром внезапной детской смерти) может вносить происходящее при этом повышение в организме уровня ИЛ-1 β , т.к. он вызывает снижение вентиляторной чувствительности к основному дыхательному стимулу – гиперкапническому.

Кроме того, учитывая, что цитокины в настоящее время все больше внедряются в состав новых лекарственных препаратов – иммуномодуляторов, результаты настоящего исследования помогают выявить возможные побочные респираторные эффекты, возникающие при применении этих препаратов.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Провоспалительный цитокин ИЛ-1 β оказывает активирующее влияние на вентиляционную функцию легких, вызывая увеличение частоты дыхания, дыхательного объема и минутного объема дыхания.

2. Одновременно с увеличением базового уровня вентиляции легких, ИЛ-1 β снижает вентиляторную чувствительность к гипоксическим и гиперкапническим изменениям в газовом составе крови, влияя на центральные и периферические механизмы хеморецепции.

3. В основе реализации влияний ИЛ-1 β на хеморефлекторные механизмы регуляции дыхания лежит активация циклооксигеназных путей и усиление синтеза простагландинов.

Апробация работы.

Результаты диссертации были представлены на Межвузовской конференции молодых ученых РГПУ им. А.И. Герцена (Санкт-Петербург, 2010); XXI Съезде физиологического общества им. И. П. Павлова. (Калуга, 2010); Конференции молодых ученых «Механизмы адаптации физиологических систем организма к факторам среды», посвященной 85-летию со дня основания Института физиологии им. И. П. Павлова РАН (Санкт-Петербург, 2010); 21-м ежегодном конгрессе Европейского респираторного общества (Амстердам, 2011); III съезде физиологов СНГ (Ялта, 2011); VIII Международном междисциплинарном конгрессе «Нейронаука для медицины и психологии» (Судак, 2012); VIII Всероссийской конференции с международным участием «Механизмы функционирования висцеральных систем», посвященной

220-летию со дня рождения К.М. Бэра (Санкт-Петербург, 2012); II Всероссийской научной конференции молодых ученых «Проблемы биомедицинской науки третьего тысячелетия» (Санкт-Петербург, 2012); XII Всероссийской школе-семинаре с международным участием «Экспериментальная и клиническая физиология дыхания» (Санкт-Петербург-Репино, 2013); XXII Съезде физиологического общества им. И. П. Павлова (Волгоград, 2013).

Публикации.

По теме диссертации опубликовано 12 работ, из них 3 в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ.

Личный вклад автора.

Основная часть работы выполнена автором самостоятельно. Составлен план исследования, разработаны способы применения метода возвратного дыхания для работы на мелких лабораторных животных и проведены все серии экспериментов (главы диссертации 3,4,5,6). В проведении исследования влияния ИЛ-1 β на паттерн дыхания, результаты которого вошли в третью главу диссертации, участвовали студенты ФГБОУ ВПО «РГПУ им. А.И.Герцена». Спроектировано специальное программное обеспечение для регистрации и обработки экспериментальных данных. Автором самостоятельно проведена количественная и статистическая обработка всех полученных данных и сделаны предварительные выводы.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, описания основных экспериментальных методик, четырех глав, содержащих результаты собственных экспериментальных исследований и их обсуждения, общего заключения и списка литературы. Объем диссертации составляет 147 страниц печатного текста, включая 8 таблиц и 51 рисунок. Список цитируемой литературы содержит описание 204 источников, в том числе 148 зарубежных работ.

ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объект исследования.

Все экспериментальные данные были получены в острых опытах, выполненных на лабораторных крысах Wistar (самцы, вес 250-300 г, возраст 2-3 месяца, n=88) в условиях общей анестезии (уретан 1400 мг/кг, внутривенно). Глубина наркоза контролировалась по степени выраженности корнеального рефлекса. Температура тела животного поддерживалась на уровне 36,0-36,8 $^{\circ}$ C. Исследование проводилось с соблюдением необходимых этических норм и правил, принятых при проведении экспериментов на животных (European Community Council Directives 86/609/EEC).

Хирургическая подготовка животного к эксперименту обеспечивала регистрацию параметров внешнего дыхания, парциальных давлений O $_2$ и CO $_2$ в конечной порции выдыхае-

мого воздуха ($P_{ET}O_2$, $P_{ET}CO_2$), состав которого соответствует составу альвеолярного газа, а также создавала условия для введения веществ в кровь и цереброспинальную жидкость. После достижения необходимой глубины наркоза производилась трахеостомия, устанавливался катетер в бедренную вену, ректально вводился термодатчик. Голова животного фиксировалась в стереотаксическом аппарате, на черепе размечались и рассверливались отверстия для стереотаксического введения микроинъектора. В трахею вводилась канюля, к которой подсоединялись миниатюрная клапанная коробочка и пневмометрическая трубка.

Методы исследования.

Метод пневмотахографии использовался для регистрации объемно-временных параметров дыхания. Объемная скорость инспираторного потока измерялась при помощи миниатюрной пневмометрической трубки (MLT1L, AD Instruments, Австралия), предназначенной для использования на мелких лабораторных животных, которая подсоединялась к пневмотахографу, связанному с аппаратно-программным комплексом “Biograf” (ГУАП, Санкт-Петербург), совмещенным с персональным компьютером. Использование электронной интеграции пневмотахографической кривой позволяло автоматически получить кривую дыхательных объемов – спирограмму. Регистрировались следующие параметры: частота дыхания (ЧД), объемная скорость инспираторного потока ($V_{инс}$), дыхательный объем (ДО) и минутный объем дыхания (МОД), который рассчитывали как произведение дыхательного объема на частоту дыхания.

Метод масс-спектрометрии применялся для анализа состава альвеолярного газа. Непрерывная регистрация $P_{ET}O_2$ и $P_{ET}CO_2$ производилась с помощью малоинерционного квадрупольного масс-спектрометра MS7-100 (ИАП РАН, Санкт-Петербург). Данный прибор обладает малой постоянной времени (не более 0,2 с), что позволяет измерять парциальное давление CO_2 и O_2 в каждом дыхательном цикле. Забор проб выдыхаемого воздуха производился через тонкий катетер, наконечник которого вставлялся в патрубков трахеостомической канюли. Кривые окси- и капнограммы фиксировались в памяти компьютера и выводились на дисплей монитора. Перед каждым исследованием прибор калибровался по трем контрольным газовым смесям с различным содержанием O_2 и CO_2 в азоте. Парциальное давление рассчитывали по калибровочному графику.

Метод возвратного дыхания использовался для оценки вентиляторной чувствительности к хеморецепторной стимуляции. Принцип метода основан на дыхании в замкнутом цикле, при котором вдох и выдох производятся из мешка и в мешок. Для оценки вентиляторной чувствительности к гипоксическому стимулу мешок заполнялся изокапнически-гипоксической газовой смесью (5% CO_2 , 15% O_2 в азоте). Содержание кислорода в мешке убывало по мере его потребления животным, обеспечивая плавное нарастание гипоксическо-

го стимула. Выделяемый избыток CO_2 удалялся химическим поглотителем, что позволяло поддерживать парциальное давление CO_2 в мешке на первоначальном уровне, исключая развитие гиперкапнии и усиление стимуляции центральных хеморецепторов. В тоже время наличие в дыхательной смеси небольшого количества CO_2 позволяло избегать развития гипокпнии. В результате производилась гипоксическая стимуляция периферических (артериальных) хеморецепторов.

Для оценки вентиляторной чувствительности к гиперкапническому стимулу мешок заполнялся гиперкапнически-гипероксической газовой смесью (7% CO_2 и 60% O_2 в азоте). Тест начинали при содержании двуокиси углерода в мешке, близком к смешанной венозной крови. При дыхании в замкнутом цикле содержание углекислого газа в мешке, легких и крови быстро (в течение нескольких дыхательных циклов) выравнивается, и его дальнейшее нарастание зависит только от продукции CO_2 тканями. Для устранения гипоксической стимуляции артериальных хеморецепторов дыхательная смесь содержала избыток кислорода, таким образом, исследовалась реакция дыхания только на гиперкапнический стимул, опосредованный главным образом центральными (медуллярными) хеморецепторами.

Продолжительность тестирования возвратным дыханием не превышала 4 минут. При этом производилась параллельная регистрация параметров внешнего дыхания и $P_{\text{ET}}\text{O}_2$ или $P_{\text{ET}}\text{CO}_2$ (в зависимости от задачи исследования). Оценку вентиляторной чувствительности во время проведения теста с возвратным дыханием проводили в диапазоне снижения $P_{\text{ET}}\text{O}_2$ от 80 до 40 мм рт.ст., и в диапазоне роста $P_{\text{ET}}\text{CO}_2$ от 50 до 75 мм рт. ст., учитывая, что в данных диапазонах зависимость прироста легочной вентиляции от степени нарастания гипоксического и гиперкапнического стимула является практически линейной.

Оценка вентиляторной реакции на хеморецепторные стимулы осуществлялась двумя способами. Во-первых, с использованием программных средств производилось графическое построение линий тренда, отражающих зависимости величины регистрируемых параметров от интенсивности гипоксического и гиперкапнического стимула и измерение углового коэффициента (α) равного тангенсу угла наклона линии тренда к оси абсцисс. Во-вторых, рассчитывалось отношение прироста МОД и других параметров респираторного ответа (ДО , $\text{V}_{\text{инс}}$) либо к снижению парциального давления кислорода, либо к увеличению парциального давления углекислого газа в альвеолярном воздухе на 1 мм рт. ст. в зависимости от задачи исследования.

Способы повышения церебрального и системного уровней ИЛ-1 β . Экзогенное повышение *церебрального уровня* ИЛ-1 β достигалось введением данного вещества в правый боковой желудочек головного мозга. Координаты для введения канюли составляли 0,8 мм каудальнее уровня bregma, 1,5 мм латерально от средней линии и 3,5-4,0 мм от поверхности черепа. Микроинъекции производились с помощью шприца Гамильтона, соединенного с

микроинъектором. Вводилось 10 мкл раствора, содержащего 500 нг ИЛ-1 β , со скоростью 1 мкл/мин. Для повышения *системного уровня* циркулирующего цитокина 500 нг ИЛ-1 β введенного в 0,1 мл физиологического раствора вводилось в кровеносную систему через бедренную вену.

При проведении контрольных экспериментов в боковой желудочек головного мозга и в бедренную вену вводился соответствующий объем физиологического раствора.

Экспериментальный протокол. Общая длительность эксперимента составляла 110-120 минут. В начале эксперимента производились регистрация фоновых параметров дыхательной системы и тестирующие пробы с возвратным дыханием. Затем осуществлялось экзогенное повышение уровня ИЛ-1 β либо в крови, либо в цереброспинальной жидкости в зависимости от задачи исследования и проводились тестирующие пробы с возвратным дыханием через каждые 20 минут до окончания эксперимента.

В экспериментальных сериях с исследованием роли простагландинов в реализации респираторных эффектов интерлейкина ингибитор циклооксигеназы диклофенак вводился внутрибрюшинно за 10 мин до введения ИЛ-1 β , далее эксперимент проходил по вышеописанному протоколу. В конце экспериментов животное усыплялось передозировкой уретана.

Статистическая обработка данных производилась средствами пакета MS Excel. Вычислялась средняя величина регистрируемых параметров и ошибка среднего. Достоверность результатов определялась посредством однофакторного дисперсионного анализа и критерия Уайта. Различия считались достоверными при $P < 0.01$ и $P < 0.05$. По полученным значениям строились графики и диаграммы.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Влияние интерлейкина-1 β на респираторные параметры при спокойном дыхании воздухом.

Церебровентрикулярное и системное введение ИЛ-1 β вызывало достоверное увеличение минутного объема дыхания, дыхательного объема, средней скорости инспираторного потока (Табл. 1, 2). Статистически значимые изменения в параметрах дыхания отмечались через 15 - 20 минут после введения препарата, достигая максимальных значений на 40 минуте после введения ИЛ-1 β . Отмечалась тенденция к увеличению частоты дыхания. Введение физиологического раствора не оказывало влияния на параметры внешнего дыхания (Табл. 1, 2). Полученные данные позволяют утверждать, что повышение как церебрального, так и системного уровня ИЛ-1 β оказывает активирующее влияние на вентиляционную функцию легких при спокойном дыхании. Увеличение вентиляции легких вызванное действием ИЛ-1 β определяется, прежде всего, увеличением центральной инспираторной активности и ростом дыхательного объема, что предполагает реализацию респираторного эффекта интерлейкина через нейроны дорсальной респираторной группы.

Таблица 1.

Изменение параметров дыхания при повышении церебрального уровня ИЛ-1 β .

Параметр	Интерлейкин-1 β (n = 8)			Физиологический раствор (n = 8)		
	Фон	40 мин	60 мин	фон	40 мин	60 мин
МОД (мл мин ⁻¹)	104 ± 9,0	126 ± 3,7**	131 ± 5,4**	95 ± 8,2	104 ± 10,5	94 ± 10,5
ДО (мл)	1,0 ± 0,05	1,13 ± 0,06*	1,17 ± 0,04*	0,9 ± 0,14	1,0 ± 0,08	1,0 ± 0,12
ЧД (цикл мин ⁻¹)	109 ± 6,0	117 ± 6,8	118 ± 6,4	104 ± 8,0	101 ± 10,4	94 ± 2,6
Винс (мл с ⁻¹)	3,7 ± 0,27	4,4 ± 0,12*	4,5 ± 0,19*	3,7 ± 0,31	3,8 ± 0,10	3,9 ± 0,11

Примечание: * - P<0.05; ** - P<0.01 по сравнению с исходными данными.

Таблица 2.

Изменение параметров дыхания при повышении системного уровня ИЛ-1 β .

Параметр	Интерлейкин-1 β (n = 8)			Физиологический раствор (n = 8)		
	фон	40 мин	60 мин	фон	40 мин	60 мин
МОД (мл мин ⁻¹)	117 ± 10,6	143 ± 12,8**	146 ± 12,0**	100 ± 5,2	97 ± 4,0	96 ± 9,5
ДО (мл)	1,0 ± 0,08	1,36 ± 0,07**	1,4 ± 0,07**	1,0 ± 0,02	0,9 ± 0,05	1,0 ± 0,08
ЧД (цикл мин ⁻¹)	113 ± 7,0	106 ± 9,0	105 ± 8,0	107 ± 2,0	105 ± 4,0	105 ± 2,6
Винс (мл с ⁻¹)	3,8 ± 0,55	4,2 ± 0,36	4,3 ± 0,40*	3,8 ± 0,29	3,9 ± 0,17	3,9 ± 0,15

Примечание: * - P<0.05; ** - P<0.01 по сравнению с исходными данными.

Влияние ИЛ-1 β на вентиляторную чувствительность к гиперкапнии.

Модуляция вентиляторного ответа на гиперкапнию при повышении содержания ИЛ-1 β в цереброспинальной жидкости. Анализ вентиляторного ответа на гиперкапнию показал существенное изменение чувствительности дыхательной системы к гиперкапнической стимуляции после интравентрикулярного введения ИЛ-1 β . Как и следовало ожидать, при возвратном дыхании гиперкапнически-гипероксической газовой смесью (7% CO₂, 60% O₂) по мере роста P_{ЕТ}CO₂ наблюдалось увеличение Винс, ДО и МОД как до введения вещества, так и после его введения. Однако после введения ИЛ-1 β угол наклона линий тренда, отражающих зависимость регистрируемого параметра от величины гиперкапнического стимула достоверно уменьшался: коэффициент «а» снижался от 5,7±0,39 в фоне до 1,8±0,10 через 40 минут действия ИЛ-1 β (P<0.05). Линии тренда становились более пологими, что свидетельствует о снижении вентиляторной чувствительности к гиперкапнии. Отмеченный респираторный эффект ИЛ-1 β отчетливо проявлялся через 20 минут действия вещества, через 40 минут был выражен максимально и исчезал через 90 минут после введения препарата (линии тренда становились параллельными) (Рис. 1).

Проведение количественных расчетов показало достоверное снижение нормированной величины прироста МОД (Рис. 2), ДО и Винс в ответ на гиперкапническую стимуляцию на фоне действия ИЛ-1 β . При этом прирост МОД при увеличении P_{ЕТ}CO₂ на 1 мм рт. ст. через 40 минут действия ИЛ-1 β снижался на 47%, прирост ДО – на 40% и средней скорости

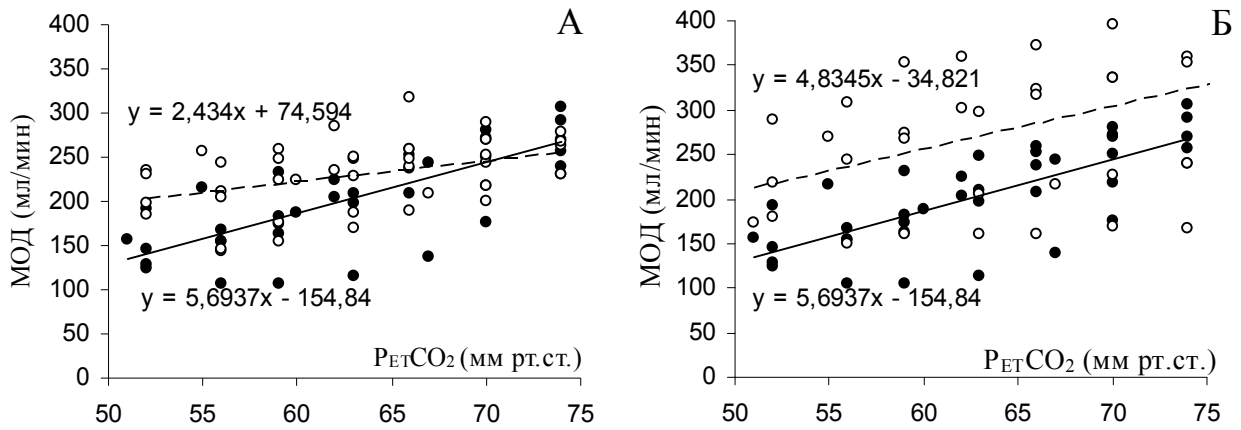


Рис. 1 Зависимость МОД от величины гиперкапнического стимула до (сплошная линия) и после (прерывистая линия) церебровентрикулярного введения ИЛ-1β. А – через 20 мин, Б – через 90 мин после введения ИЛ-1β.

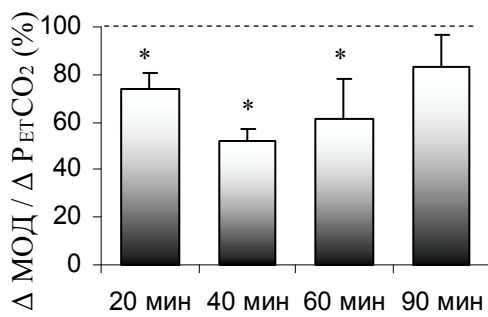


Рис.2 Влияние церебровентрикулярного введения ИЛ-1β на нормированную величину прироста МОД в ответ на гиперкапническую стимуляцию. По оси абсцисс: период времени прошедший после начала введения ИЛ-1β. По оси ординат: величина прироста МОД при увеличении $P_{ET}CO_2$ на 1 мм рт. ст., выраженная в процентах к фону. За 100% принята величина прироста параметров до введения ИЛ-1β. * - достоверные отличия от фона при $P < 0.05$.

инспираторного потока на 38% по сравнению с фоновыми приростами этих параметров, зарегистрированными до церебровентрикулярного введения ИЛ-1β. Церебровентрикулярное введение физиологического раствора не вызывало снижение угла наклона линий тренда и величины прироста регистрируемых параметров при гиперкапнической стимуляции.

Вентиляторный ответ на гиперкапнию при повышении системного уровня ИЛ-1β. В отличие от повышения церебрального уровня ИЛ-1β, увеличение системного уровня ИЛ-1β, не оказывало достоверного влияния на компоненты вентиляторного гиперкапнического ответа. Угол наклона линий тренда, характеризующих зависимости V_{ins} , ДО и МОД от интенсивности гиперкапнического стимула достоверно не изменялся. Полученные данные свидетельствуют о том, что повышение системного уровня циркулирующего ИЛ-1β не влияет на вентиляторную чувствительность к гиперкапнии.

Таким образом, ИЛ-1β вызывает снижение вентиляторной чувствительности к гиперкапнии только при повышении его церебрального уровня, что может определяться влиянием этого цитокина как непосредственно на центральные хеморецепторы, так и на синаптические механизмы передачи афферентации от центральных хеморецепторов к инспираторным нейронам дорсальной респираторной группы. Периферические хеморецепторы не участвуют в

формировании вентиляторных ответов при дыхании гипероксически-гиперкапнической газовой смесью.

Влияние ИЛ-1β на вентиляторную чувствительность к гипоксии.

Вентиляторный ответ на гипоксию при повышении содержания ИЛ-1β в цереброспинальной жидкости. При возвратном дыхании по мере постепенного усиления гипоксической стимуляции наблюдалось увеличение всех параметров характеризующих вентиляторный ответ – дыхательного объема, минутного объема дыхания и средней скорости инспираторного потока (показателя центральной инспираторной активности). Однако после церебрального введения ИЛ-1β угол наклона к оси абсцисс линий тренда, характеризующих зависимость между величиной регистрируемых параметров и степенью гипоксической стимуляции уменьшался. Линии тренда становились более пологими. Так, коэффициент «а» для линии тренда МОД снижался от $9,0 \pm 1,36$ в фоне до $2,8 \pm 0,14$ через 90 минут действия ИЛ-1β ($P < 0.05$). Достоверные изменения наблюдались через 40 минут после введения ИЛ-1β с максимальным проявлением этого эффекта через 90 минут действия препарата (Рис.3).

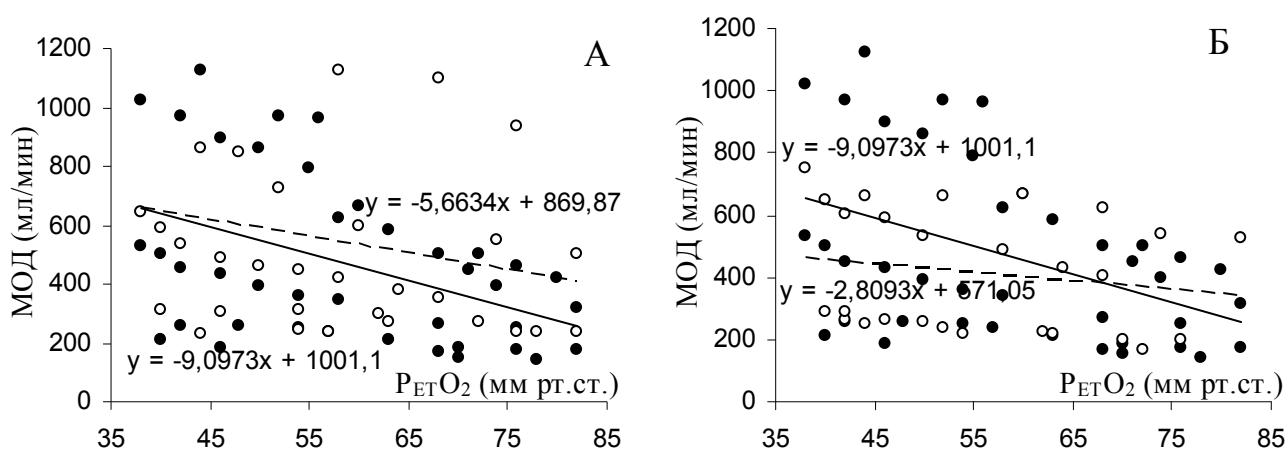


Рис.3. Зависимость МОД от величины гипоксического стимула до (сплошная линия) и после (прерывистая линия) церебровентрикулярного введения ИЛ-1β. А – через 40 мин, Б – через 90 мин после введения ИЛ-1β.

Расчет величины прироста параметров вентиляторного ответа при снижении $P_{ET}O_2$ на 1 мм рт. ст. показал, что через 40 минут после введения ИЛ-1β прирост МОД уменьшался на 41%, ДО – на 23% и $V_{инс}$ – на 42% по сравнению с приростами данных параметров, зарегистрированными до введения ИЛ-1β. Через 90 минут это снижение составило уже 61%, 38% и 45% соответственно. Динамика интенсивности влияния ИЛ-1β на вентиляторный гипоксический ответ демонстрируется на рис 4.

Таким образом, в данной серии экспериментов было обнаружено, что повышение церебрального уровня ИЛ-1β вызывает снижение вентиляторной чувствительности к гипоксии.

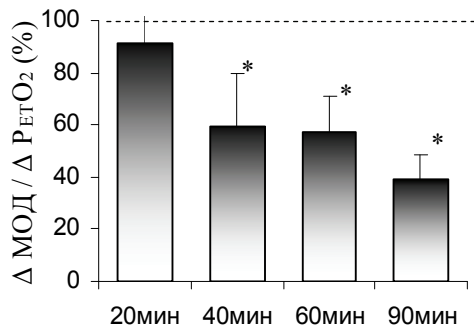


Рис.4. Динамика изменений нормированной величины прироста МОД, при гипоксической стимуляции на фоне повышения церебрального уровня ИЛ-1β. По оси абсцисс: период времени прошедший после начала интравентрикулярного введения ИЛ-1β. По оси ординат: величина прироста МОД при снижении $P_{ET}O_2$ на 1 мм рт. ст., выраженная в процентах к фону. За 100% принята величина прироста параметров до введения ИЛ-1β. * - достоверные отличия от фона при $P < 0.05$.

Вентиляторный ответ на гипоксию при повышении системного уровня ИЛ-1β.

При внутривенном введении ИЛ-1β, также как и при его центральном введении, наблюдается достоверное уменьшение угла наклона линий тренда и приростов МОД, ДО и $V_{инс}$ в ответ на усиление гипоксического стимула. Так, величина коэффициента «а», характеризующая наклон линий тренда МОД снижалась от $3,2 \pm 0,31$ в фоне, до $1,7 \pm 0,18$ через 40 мин после введения ИЛ-1β ($P < 0.05$). При этом прирост МОД через 40 минут действия ИЛ-1β уменьшался на 31%, ДО – на 30% и $V_{инс}$ – на 47% по сравнению с приростами данных параметров в фоне, до введения ИЛ-1β. Динамика изменений нормированных приростов МОД при системном действии ИЛ-1β, характеризующих выраженность вентиляторного ответа на гипоксию представлена на рис. 5. Следует отметить, что изменение вентиляторного ответа на гипоксию при системном введении ИЛ-1β было выражено в меньшей степени, но происходило быстрее, чем при его центральном введении. Достоверное снижение вентиляторной чувствительности к гипоксии наблюдалось уже через 20 минут после внутривенного введения ИЛ-1β, тогда как при его центральном введении достоверное изменение параметров ответа на гипоксию наблюдается лишь через 40 минут.

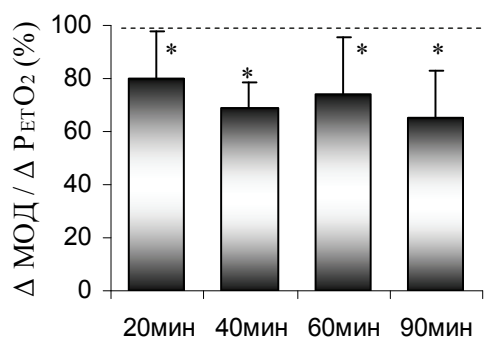


Рис. 5 Динамика изменений нормированной величины прироста МОД, при гипоксической стимуляции на фоне повышения системного уровня ИЛ-1β. По оси абсцисс: период времени прошедший после начала введения ИЛ-1β. По оси ординат: величина прироста МОД при снижении $P_{ET}O_2$ на 1 мм рт. ст., выраженная в процентах к фону. За 100% принята величина прироста параметров до введения ИЛ-1β. * - достоверные отличия от фона при $P < 0.05$.

Таким образом, угнетение вентиляторной чувствительности к гипоксии наблюдалось как при церебровентрикулярном, так и при внутривенном введении ИЛ-1β. Этот факт указывает на то, что депрессивное влияние ИЛ-1β на вентиляторный гипоксический ответ может быть опосредовано как его центральными эффектами на уровне

нейронов бульбарного дыхательного центра (при повышении церебрального уровня ИЛ-1 β), так и влиянием на периферические хеморецепторы (при повышении его системного уровня).

Роль простагландинов в реализации респираторных эффектов интерлейкина-1 β .

Вентиляторный ответ на гиперкапнию при повышении церебрального уровня ИЛ-1 β на фоне действия диклофенака. После внутрибрюшинного введения диклофенака повышение церебрального уровня ИЛ-1 β не вызывало достоверного снижения вентиляторной чувствительности к гиперкапнии: угол наклона линий тренда, характеризующих зависимость МОД, ДО и средней скорости инспираторного потока от величины гиперкапнической стимуляции не изменялся после введения ИЛ-1 β . Количественная оценка реакции на гиперкапнию и анализ ее динамики показали, что в течение всего эксперимента прирост МОД в ответ на увеличение $P_{ET}CO_2$ на 1 мм рт. ст. после введения ИЛ-1 β на фоне диклофенака достоверно не отличался от прироста, зарегистрированного в контроле, т.е. до введения препаратов (рис. 6). То же самое относится и к другим параметрам, характеризующим вентиляторный ответ на гиперкапнию.

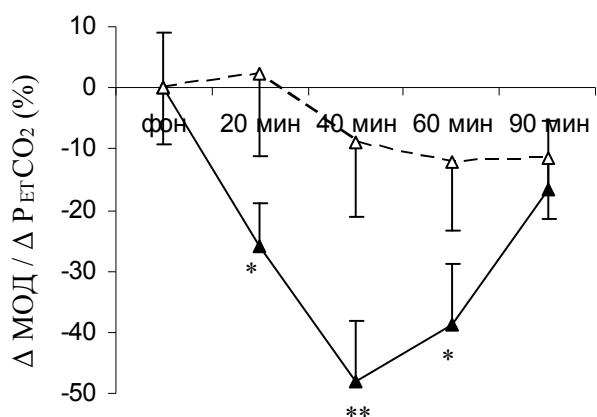


Рис.6 Влияние диклофенака на модуляцию гиперкапнического вентиляторного ответа под действием ИЛ-1 β .

По оси ординат: прирост МОД при возвратном дыхании гиперкапнической газовой смеси. Сплошная линия при церебральном введении ИЛ-1 β , пунктирная линия при церебральном введении ИЛ-1 β на фоне действия диклофенака.

* - достоверное отличие от фона $P < 0.05$;

** - $P < 0.01$.

Таким образом, на фоне действия диклофенака ингибирующего активность циклооксигеназы, повышение церебрального уровня ИЛ-1 β не изменяет вентиляторный ответ на гиперкапнический стимул. Эти данные указывают на то что, при нарушении синтеза простагландинов исчезает способность ИЛ-1 β оказывать влияние на вентиляторную чувствительность к гиперкапнии.

Вентиляторный ответ на гипоксию при повышении церебрального и системного уровня ИЛ-1 β на фоне действия диклофенака. Как церебровентрикулярное, так и системное введение ИЛ-1 β в сочетании с внутрибрюшинным введением диклофенака не вызывало изменение угла наклона линий тренда, определяющих зависимость параметров вентиляторного гипоксического ответа от интенсивности гипоксического стимула. Расчет нормированных приростов МОД, ДО и $V_{инс}$ в ответ на гипоксическую стимуляцию после введения

ИЛ-1 β на фоне действия диклофенака также не выявил достоверных различий в их величинах, зарегистрированных до и после введения препаратов (рис. 7, 8). Эти данные свидетельствуют о том, что диклофенак резко ослабляет как центральное, так и периферическое действие ИЛ-1 β на параметры вентиляторного гипоксического ответа.

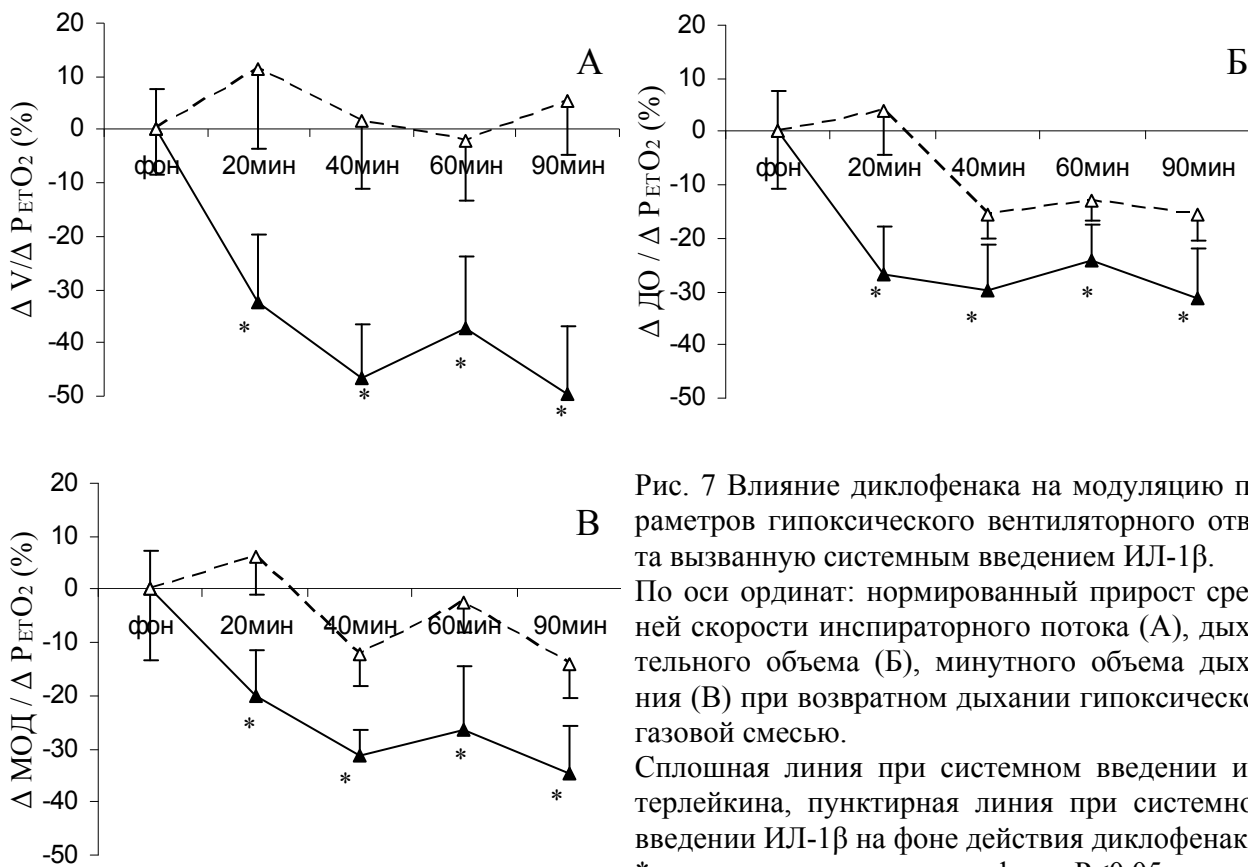


Рис. 7 Влияние диклофенака на модуляцию параметров гипоксического вентиляторного ответа вызванную системным введением ИЛ-1 β .

По оси ординат: нормированный прирост средней скорости инспираторного потока (А), дыхательного объема (Б), минутного объема дыхания (В) при возвратном дыхании гипоксической газовой смесью.

Сплошная линия при системном введении интерлейкина, пунктирная линия при системном введении ИЛ-1 β на фоне действия диклофенака.

*- достоверные отличия от фона, P<0.05.

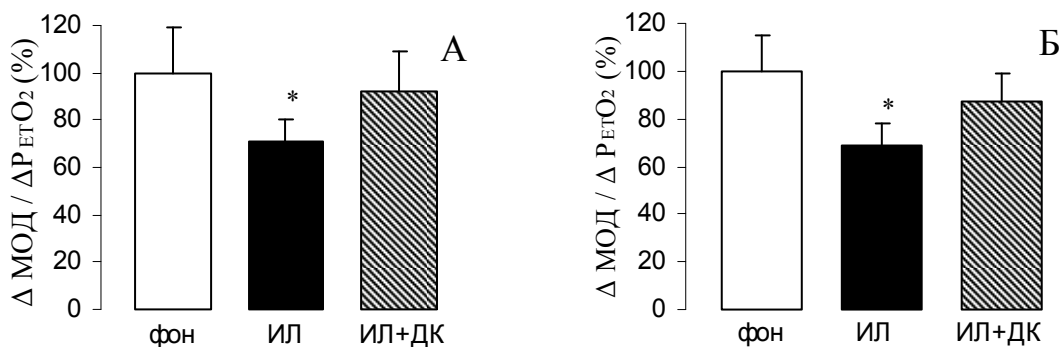


Рис. 8. Устранение ингибирующего влияния ИЛ-1 β на вентиляторный гипоксический ответ при действии диклофенака. (А) через 40 минут после центрального введения ИЛ-1 β , (Б) через 40 минут после системного введения ИЛ-1 β .

По оси ординат: прирост МОД при возвратном дыхании гипоксической газовой смесью. Белые столбики – фоновое значение; черные столбики – действие ИЛ-1 β без диклофенака; заштрихованные столбики – сочетанное действие диклофенака и ИЛ-1 β . *- достоверные отличия от фона, P<0.05.

Таким образом, ингибирование циклооксигеназной активности ослабляющее синтез простагландинов устраняет модулирующее влияние ИЛ-1 β и на гиперкапнический и на гипоксический вентиляторный ответ, что указывает на участие простагландинов в реализации респираторных эффектов ИЛ-1 β .

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время получены многочисленные доказательства того, что мозг является иммунологически компетентным органом, с большим количеством цитокинов и цитокиновых рецепторов, экспрессируемых в нейронах, астроцитах, микроглии и олигодендроцитах, эпендимных клетках, выстилающих желудочки мозга и спинномозговой канал, в клетках цереброваскулярного эндотелия. Поэтому кроме иммунорегуляции цитокины, действуя на определенные структуры нервной системы, могут оказывать влияние на разнообразные физиологические процессы, и в том числе, как мы предположили, на регуляцию респираторной функции. Это тем более вероятно, что значительное количество функционально активных рецепторов ИЛ-1 первого типа обнаружено в ядре одиночного тракта, в области которого расположена дорсальная респираторная группа нейронов дыхательного центра (Maier et al., 1998; Dantzer et al., 2000; Gordon et al., 2000). Проведенное нами исследование позволило получить прямые экспериментальные данные, подтверждающие это предположение и указывающие на участие провоспалительных цитокинов в контроле респираторной функции.

Наши эксперименты показали, что провоспалительный цитокин ИЛ-1 β может изменять паттерн дыхания, усиливать вентиляцию легких и оказывать влияние на рефлекторные механизмы регуляции функции дыхания. Результаты, полученные при исследовании влияния ИЛ-1 β на объемно-временные параметры дыхания, позволяют сделать вывод об активирующем влиянии провоспалительных цитокинов на центральный механизм регуляции паттерна дыхания. Этот вывод подтверждается и данными других авторов (Graff, Gozal, 1999; Preas et al., 2001). Однако, как показали результаты наших дальнейших исследований, это утверждение справедливо только для спокойного, не стимулируемого дыхания в условиях нормоксии. Эксперименты с возвратным дыханием гиперкапнической и гипоксической газовыми смесями показали, что увеличивая базовый уровень вентиляции легких, провоспалительные цитокины в тоже время обладают угнетающим действием на хеморефлекторные механизмы регуляции дыхания, вызывая снижение вентиляторной чувствительности к гиперкапнии и гипоксии.

Обнаруженный двойственный эффект ИЛ-1 β при его системном введении может быть связан с тем действием, которое он оказывает на периферические хеморецепторы, опосредующие вентиляторную чувствительность к гипоксии. Исследования последних лет показали, что провоспалительные цитокины (ИЛ-1 β , ФНО- α , ИЛ-6) и их рецепторы экспрессируются в гломусных клетках каротидного тела (Wang et al., 2006; Zang et al., 2007; Fernandez et

al., 2011). Поэтому экзогенное введение ИЛ-1 β и ФНО- α стимулирует гломусные клетки и увеличивает частоту разрядов синусного нерва иннервирующего каротидные тельца (Shu et al., 2007; Fernandez et al., 2011). Однако, увеличивая фоновую активность каротидного синусного нерва, цитокины в то же самое время снижают его хемочувствительность (Fernandez et al., 2008; Gauda et al., 2013). Этот механизм может объяснить респираторный эффект, который наблюдался в наших экспериментах при внутривенном введении ИЛ-1 β : увеличение центральной инспираторной активности и вентиляции легких при одновременном снижении вентиляторной чувствительности к гипоксии.

Кроме того, анализ механизмов реализации обнаруженных нами респираторных эффектов ИЛ-1 β показал, что в их основе лежит активация циклооксигеназных путей, вызванная взаимодействием ИЛ-1 β со специфическим рецептором и способствующая усилению продукции простагландинов (PGE₂). Об этом свидетельствует отсутствие влияния ИЛ-1 β на вентиляторный гипоксический и гиперкапнический ответ на фоне действия диклофенака ингибирующего активность циклооксигеназы. Учитывая полученные нами экспериментальные данные и результаты гистохимических исследований показывающие, что PGE₂ в большом количестве экспрессируются в области дорсальной респираторной группы при активации имеющихся здесь цитокиновых рецепторов (Nadeau, Rivest, et al., 1999; Wong et al., 1995), можно утверждать, что в системе регуляции внешнего дыхания простагландины являются активными передатчиками цитокинового сигнала на группы нейронов, участвующих в формировании вентиляторных ответов на гиперкапнию и гипоксию.

Таким образом, полученные нами результаты в сочетании с известными на данный момент литературными данными позволяют полагать, что ИЛ-1 β , введенный в боковые желудочки мозга, с током ликвора достигал дна четвертого желудочка и взаимодействовал с соответствующими рецепторами, локализованными в области дорсальной респираторной группы. Цитокин-рецепторное взаимодействие вызывало активацию циклооксигеназы и усиление продукции PGE₂, которые могли изменять активность ферментных систем той же самой клетки, действуя как вторичные мессенджеры, а кроме того проникать через плазмолемму и взаимодействовать с рецепторами простагландинов расположенными на других прилегающих нейронах. В соответствии с современными представлениями простагландины являются тормозными модуляторами вызывающими респираторную депрессию (Ballanyi et al., 1999). На основании полученных нами данных можно утверждать, что повышение церебрального уровня ИЛ-1 β усиливало тормозное влияние PGE₂ на хеморецепторные нейроны (центральные хеморецепторы) и/или на нейроны респираторных сетей, участвующих в передаче афферентных сигналов от центральных и периферических хеморецепторов на α -инспираторные нейроны (I α). В результате уменьшалась вентиляторная реакция на гиперкапнию и гипоксию, т.к. эти нервные клетки являются бульбоспинальными премоторными

нейронами, участвующими в формировании ЦИА и передающими ее на мотонейроны дыхательных мышц. При системном введении ИЛ-1 β вероятно вызывал усиление продукции PGE₂, взаимодействуя с рецепторами расположенными на гломусных клетках каротидных телец (периферических хеморецепторах), что способствовало снижению их активности и соответственно ослаблению афферентного потока, поступающего на нейроны Ia от периферических хеморецепторов, сопровождаясь снижением вентиляторной чувствительности к гипоксии. Отсутствие изменений в вентиляторном ответе на гиперкапнию при повышении системного уровня ИЛ-1 β указывает на то, что гематоэнцефалический барьер препятствует действию провоспалительных цитокинов на механизмы центральной хеморецепции, а активирующие изменения в базовом паттерне дыхания, обнаруженные при внутривенном введении ИЛ-1 β , по-видимому, связаны с усилением активности синусного нерва, иннервирующего каротидные тела.

ВЫВОДЫ

1. Экзогенное повышение как церебрального, так и системного уровня провоспалительного цитокина ИЛ-1 β вызывает увеличение вентиляции легких связанное с усилением центральной инспираторной активности и ростом дыхательного объема.
2. Оказывая активирующее влияние на базовые параметры дыхания, ИЛ-1 β в тоже время снижает вентиляторную чувствительность к изменению газового состава крови и цереброспинальной жидкости, ухудшая тем самым компенсаторные возможности системы внешнего дыхания.
3. Повышение содержания ИЛ-1 β в цереброспинальной жидкости ослабляет вентиляторную чувствительность и к гиперкапнии, и к гипоксии, указывая на участие провоспалительных цитокинов в центральных механизмах хеморецепции.
4. Повышение уровня ИЛ-1 β в плазме крови ослабляет опосредуемую периферическими хеморецепторами вентиляторную чувствительность к гипоксии, но не изменяет вентиляторную чувствительность к гиперкапнии, опосредуемую центральными хеморецепторами.
5. Повышение церебрального и системного уровня ИЛ-1 β на фоне ингибирования циклооксигеназной активности диклофенаком не оказывает влияния на вентиляторную чувствительность к гипоксии и к гиперкапнии, свидетельствуя о том, что в основе модулирующих влияний провоспалительных цитокинов на хеморецепторные механизмы регуляции дыхания лежит усиление синтеза простагландинов.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в изданиях рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ:

1. Александрова Н.П., Меркурьев В.А., Данилова Г.А., Тюлина Е.В., Александров В.Г. Изменение объемно-временных параметров внешнего дыхания при экзогенном повышении уровня интерлейкина-1 β // Вестник Тверского Государственного Университета.- Серия «Биология и экология».-2009.- №37, выпуск 16.- С. 7-11.

2. Aleksandrova N.P., Danilova G.A. Effect of intracerebroventricular injection of interleukin-1beta on the ventilatory response to hyperoxic hypercapnia // Eur J Med Res.-2010.-V. 15, Suppl.II:-P. 1-4.

3. Данилова Г.А., Александрова Н.П. Влияние интерлейкина-1 β на вентиляторную чувствительность к гиперкапнии // Вестник Тверского Государственного Университета.- Серия «Биология и экология».- 2011.- № 20, выпуск 23.- С. 29-36.

Статьи в нецензурируемых журналах и материалы конференций:

4. Данилова Г.А., Александрова Н.П. Изменение вентиляторного ответа на гипоксию при повышении уровня интерлейкина-1 β в крови и цереброспинальной жидкости // Ульяновский медико-биологический журнал.- 2012.- №2.- С. 92-97.

5. Тюлина Е.В., Данилова Г.А. Вентиляторный ответ дыхательной системы на гиперкапническую стимуляцию в условиях измененного иммунного статуса // Сборник статей межвузовской конференции молодых ученых РГПУ им. А.И.Герцена.- 2010.- С. 57-59.

6. Данилова Г.А., Тюлина Е.В., Александрова Н.П. Влияние экзогенного интерлейкина-1 β на вентиляторную чувствительность к гипоксии и гиперкапнии // Сборник тезисов XXI съезда физиологического общества им.И.П.Павлова.- 2010.- С. 175-176.

7. Данилова Г.А. Изменение вентиляторного ответа на гиперкапнию при повышении церебрального уровня интерлейкина-1 β // Сборник тезисов конференции молодых ученых «Механизмы адаптации физиологических систем организма к факторам среды», посвященной 85-летию со дня основания Института физиологии им. И.П. Павлова РАН.-2010.- С. 34-35.

8. Aleksandrova N.P., Danilova G.A. The effect of interleukin-1 β on lung ventilation and central CO₂ chemoreception // Eur Resp J.-№ 38.- Abstracts of 21th ERS Annual Congress. Amsterdam.- 2011.- P. 904.

9. Александрова Н.П., Данилова Г.А. Влияние провоспалительных цитокинов на паттерн дыхания и центральные механизмы хеморецепции // Сборник научных трудов III съезда физиологов СНГ.- Ялта, Украина.- 2011.-С. 130-131.

10. Данилова Г.А., Александрова Н.П. Изменение вентиляторного ответа на гипоксию и гиперкапнию при экзогенном увеличении интерлейкина-1 β в крови и цереброспинальной

жидкости // Сборник научных трудов VIII Международного междисциплинарного конгресса «Нейронаука для медицины и психологии».- Судак, Украина.-2012.- С. 148.

11. Данилова Г.А., Александрова Н.П. Роль простагландинов в реализации респираторных эффектов провоспалительных цитокинов // Тезисы докладов VIII Всероссийской конференции с международным участием «Механизмы функционирования висцеральных систем», посвященной 220-летию со дня рождения К.М. Бэра. Санкт-Петербург.-2012.-С. 70.

12. Данилова Г.А. Механизмы действия интерлейкина-1 β на центральную хеморецепцию // Сборник тезисов XXII съезда физиологического общества им.И.П.Павлова.- 2013.-С. 142-143.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ДО	дыхательный объем
ИЛ	интерлейкин
МОД	минутный объем дыхания
ФНО- α	фактор некроза опухоли
ЦИА	центральная инспираторная активность
ЧД	частота дыхания
СО ₂	углекислый газ
О ₂	кислород
PGE ₂	простагландин E ₂
P _{ЕТ} O ₂	парциальное давление кислорода в конце выдоха
P _{ЕТ} СО ₂	парциальное давление углекислого газа в конце выдоха
V _{инс}	средняя скорость инспираторного потока

Подписано в печать 23.12.13 Формат 60x84 1/16 Печ. л. 1,0
Тираж 100 Заказ 02/01 Цифровая печать

Отпечатано в типографии «Фалкон Принт»
(197101, г. Санкт-Петербург, ул. Большая Пушкарская, д. 54, офис 2)

