

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт физиологии им. И.П. Павлова

На правах рукописи

Данилова Галина Анатольевна

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

03.03.01. – физиология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук
Александрова Нина Павловна

Санкт-Петербург
2014

ОГЛАВЛЕНИЕ

ОГЛАВЛЕНИЕ.....	2
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	5
ВВЕДЕНИЕ.....	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	12
1.1. Основные принципы и механизмы регуляции системы внешнего дыхания	12
1.1.1. Структурно-функциональная организация дыхательного центра.....	15
1.1.2. Хеморецепторные механизмы регуляции дыхания.....	22
1.1.2.1. Центральные хеморецепторы.....	23
1.1.2.2. Периферические хеморецепторы.....	27
1.1.2.3. Реакции дыхательной системы на гиперкапнический и гипоксический стимулы.....	32
1.2. Цитокиновая система регуляции физиологических функций.....	35
1.2.1. Общая характеристика и классификация цитокинов.....	36
1.2.2. Рецепторы цитокинов и механизм внутриклеточной передачи сигнала.	38
1.2.3. Семейство интерлейкинов.....	40
1.2.4. Действие цитокинов на центральную нервную систему.....	42
1.2.5. Влияние провоспалительных цитокинов на функцию дыхания.....	46
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	50
2.1. Объект исследования.....	50
2.2. Способы повышения церебрального и системного уровней интерлекина-1 β	51
2.3. Пневотахографический метод регистрации объемно-временных параметров дыхания.....	53
2.4. Анализ состава альвеолярного газа методом масс-спектрометрии.....	56
2.5. Оценка вентиляторной чувствительности к гиперкапнии и гипоксии ме- тодом возвратного дыхания.....	57
2.5.1. Оценка вентиляторной реакции на гипоксический стимул.....	58
2.5.2. Оценка вентиляторной реакции на гиперкапнический стимул.....	59
2.5.3. Обработка экспериментальных данных.....	61

ГЛАВА 3. ВЛИЯНИЕ ИНТЕРЛЕЙКИНА-1β НА РЕСПИРАТОРНЫЕ ПАРАМЕТРЫ ПРИ СПОКОЙНОМ ДЫХАНИИ ВОЗДУХОМ.....	62
3.1. Изменение параметров дыхания при повышении церебрального уровня интерлекина-1 β	62
3.2. Изменение параметров дыхания при повышении системного уровня интерлекина-1 β	63
3.3. Обсуждение полученных результатов.....	64
ГЛАВА 4. ВЛИЯНИЕ ИНТЕРЛЕЙКИНА-1β НА ЦЕНТРАЛЬНУЮ ХЕМОРЕЦЕПЦИЮ.....	68
4.1. Модуляция вентиляторного ответа на гиперкапнию при повышении содержания интерлекин-1 β в цереброспинальной жидкости.....	69
4.2. Вентиляторный ответ на гиперкапнию при повышении системного уровня интерлекина-1 β	74
4.3. Обсуждение полученных результатов.....	78
ГЛАВА 5. ВЛИЯНИЕ ИНТЕРЛЕЙКИНА-1β НА ПЕРИФЕРИЧЕСКУЮ ХЕМОРЕЦЕПЦИЮ.....	85
5.1. Вентиляторный ответ на гипоксию при повышении содержания интерлекина-1 β в цереброспинальной жидкости.....	86
5.2. Вентиляторный ответ на гипоксию при повышении системного уровня интерлекина-1 β	92
5.3. Обсуждение полученных результатов.....	97
ГЛАВА 6. РОЛЬ ПРОСТАГЛАНДИНОВ В РЕАЛИЗАЦИИ РЕСПИРАТОРНЫХ ЭФФЕКТОВ ИНТЕРЛЕЙКИНА-1β.....	102
6.1. Модуляция вентиляторного ответа на гиперкапнию интерлекином-1 β при ингибировании циклооксигеназной активности.....	103
6.1.1. Вентиляторный ответ на гиперкапнию при повышении церебрального уровня интерлекина-1 β на фоне действия диклофенака.....	103
6.2. Модуляция вентиляторного ответа на гипоксию интерлекином-1 β при ингибировании циклооксигеназной активности.....	110

6.2.1. Вентиляторный ответ на гипоксию при повышении церебрального уровня интерлекина-1 β на фоне действия диклофенака.....	110
6.2.2. Вентиляторный ответ на гипоксию при повышении системного уровня интерлекина-1 β на фоне действия диклофенака.....	115
6.3. Обсуждение полученных результатов.....	119
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	124
ВЫВОДЫ.....	129
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	130

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВРГ	центральная респираторная группа
ГЭБ	гематоэнцефалический барьер
ДО	дыхательный объем
ДРГ	дорсальная респираторная группа
МОД	минутный объем дыхания
ХОБЛ	хроническая обструктивная болезнь легких
ЦИА	центральная инспираторная активность
ЧД	частота дыхания
a_{MOD} , a_{DO} , a_{Vins}	угловой коэффициент аппроксимированных прямых, который численно равен тангенсу угла между положительным направлением оси абсцисс и данной прямой
c-fos	ядерныйprotoонкоген, участвующий в процессах клеточной пролиферации и дифференцировки
COX	циклооксигеназа
IL, ИЛ	интерлейкин
Jaks	янус-киназы
LPS, ЛПС	липополисахарид
NO	оксид азота
NOS	NO – синтаза
NPA	параамбигуальное ядро
NRA	ретроамбигуальное ядро
NTS	ядро солитарного тракта
$P_{\text{ET}}\text{O}_2$	парциальное давление кислорода в конечной порции выдыхаемого воздуха
$P_{\text{ET}}\text{CO}_2$	парциальное давление углекислого газа в конечной порции выдыхаемого воздуха
PG	простагландин
Stats	сигнальные трансдукторы и активаторы транскрипции
TNF- α , ФНО- α	фактор некроза опухоли (tumor necrosis factor)
Тир	тироzin-киназы
Винс	средняя скорость инспираторного потока

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы.

В настоящее время установлено, что в организме человека и животных проходит 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., 1995, 1996). Попадая в циркуляторное русло, цитокины оказывают гормоноподобное действие на удаленные 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 нейрохимическая организация дыхательного центра, исследуется роль различных медиаторов и модуляторов в центральном контроле дыхания (Иньюшкин, 1998, 2001). Однако об участии цитокинов в механизмах регуляции дыхания почти ничего не известно. Вместе с тем установлено, что цитокины играют важную роль в нейроиммунных 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 имmunогистохимических 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., 1998a; 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 каротидного тела (Wang et al., 2006; Zhang 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, инсултах 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 (апнейзы, 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 церебрально-го уровня ИЛ-1 β на фоновые параметры внешнего дыхания: частоту дыхания, дыхательный объем, минутную вентиляцию легких, среднюю скорость инспиратор-ного потока.
2. Выяснить возможность модуляции интерлейкином-1 β вентиляторной чув-ствительности к гиперкапнии.
3. Изучить характер влияния ИЛ-1 β на вентиляторную чувствительность к гипоксии.
4. Сравнить респираторные эффекты ИЛ-1 β при его системном (внутривен-ном) и церебральном (интравентрикулярном) введении.
5. Исследовать влияние ИЛ-1 β на гипоксический и гиперкапнический вен-тиляторный ответ на фоне действия диклофенака, ингибитора синтеза простаглан-динов, как предполагаемых посредников в реализации респираторных ответов на действие ИЛ-1 β .

Научная новизна работы.

Представленная работа посвящена изучению роли иммунной системы в ре-гуляции физиологических функций организма. Она способствует разработке ново-го направления исследований в области физиологии дыхания – изучению нейро-иммунных механизмов регуляции респираторной функции. Это первая экспери-ментальная работа, в которой прямо показано участие провоспалительных цитоки-

нов, 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 чувстви-

тельности 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.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Основные принципы и механизмы регуляции системы внешнего дыхания

Согласно современным представлениям, внешнее дыхание представляет собой совокупность всех физиологических процессов, обеспечивающих поступление в организм кислорода и выделение во внешнюю среду двуокиси углерода. Процесс использования кислорода клетками и тканями для окисления органических веществ с освобождением энергии, необходимой для процессов жизнедеятельности определяется как клеточное или тканевое дыхание.

Основная функция сложной системы регуляции дыхания заключается в поддержании стабильности газового состава и кислотно-основного баланса крови, что достигается координированной деятельностью систем внешнего дыхания, кровообращения и крови. Изменение интенсивности тканевого дыхания, как в целом организме, так и в отдельных органах обеспечивается соответствующими изменениями легочной вентиляции, сердечного выброса, органного кровотока и перераспределением объема циркулирующей крови между различными органами. В комплексе приспособительных реакций специфическое место занимает система внешнего дыхания. Управление вентиляцией легких происходит на основе информации, поступающей из внутренней дыхательной среды организма. Конечная цель регуляции дыхания состоит в обеспечении организма кислородом в соответствии с метаболическими потребностями, однако особенность регуляции легочной вентиляции заключается в том, что контролируется не транспорт кислорода, а элиминация углекислого газа из организма. Соответствие между интенсивностью обмена кислорода и двуокиси углерода в тканях и уровнем вентиляции достигается системой регуляции дыхания, которая работает как автоматизированная система управления, обладающая отрицательными обратными связями (Шик, 1994).

Основополагающими принципами работы этой системы являются: *управление по отклонению и управление по возмущению*.

Управление по отклонению: при увеличении или уменьшении контролируемого параметра по отношению к «заданной» величине происходит изменение легочной вентиляции, которое препятствует этому отклонению. Например, увеличе-

ние РСО₂ в артериальной крови сопровождается увеличением легочной вентиляции и удалением избытка СО₂ через легкие.

Управление по возмущению: импульсация из внутренней или внешней среды о предстоящем сдвиге регулируемого параметра заранее вызывает перестройки легочной вентиляции, направленные на предотвращение предстоящих сдвигов. Так, увеличение минутной вентиляции происходит уже в самом начале физической работы, еще до предстоящих изменений в мышечном метаболизме и газовом составе крови. Сигнал о возмущении поступает в дыхательный центр, в результате чего увеличивается вентиляция легких, препятствуя возможному изменению газового состава крови и цереброспинальной жидкости. Управление по возмущению является своего рода прогнозирующим компонентом механизма регуляции дыхания. Обрабатывая сигналы из внешней и внутренней среды, свидетельствующие о возможных предстоящих сдвигах в регулируемых параметрах, регуляторный механизм перестраивает вентиляцию так, чтобы предотвратить эти возможные изменения. Благодаря регулирующим механизмам по возмущению и по отклонению, возможно поддержание постоянства газового состава альвеолярного воздуха и крови при различных изменениях внешней и внутренней среды.

Управление легочной вентиляцией в своей основе является автономным, а нормальная регуляция дыхания сохраняется во время сна и наркоза. Функциональная система, регулирующая легочную вентиляцию, состоит из следующих звеньев: центральный дыхательный механизм; сенсорные входы – хемо- и механорецепторы дыхательной системы; моторный выход – эффекторы, дыхательные мышцы, осуществляющую вентиляцию легких (рис.1.1).



Рис. 1.1. Основные элементы системы регуляции дыхания.

Афферентная информация от хемо- и механорецепторов поступает в центральный дыхательный механизм, в котором происходит формирование эфферентных, командных сигналов дыхательным мышцам. Изменение активности дыхательных мышц вызывает изменение вентиляции, что в свою очередь снижает возбуждающие воздействия на рецепторы (отрицательная обратная связь).

Нормальное протекание процессов внутреннего и внешнего дыхания в различных условиях среды, их взаимодействие и координация осуществляется благодаря наличию нервных регуляторных механизмов, являющихся составной частью системы дыхания (рис. 1.2). Они обеспечивают передачу информации, ее переработку и посылку управляющих сигналов к эффекторам. Именно нервный аппарат соединяет отдельные участки дыхательной системы в единую функциональную систему (Сафонов и др, 2000).

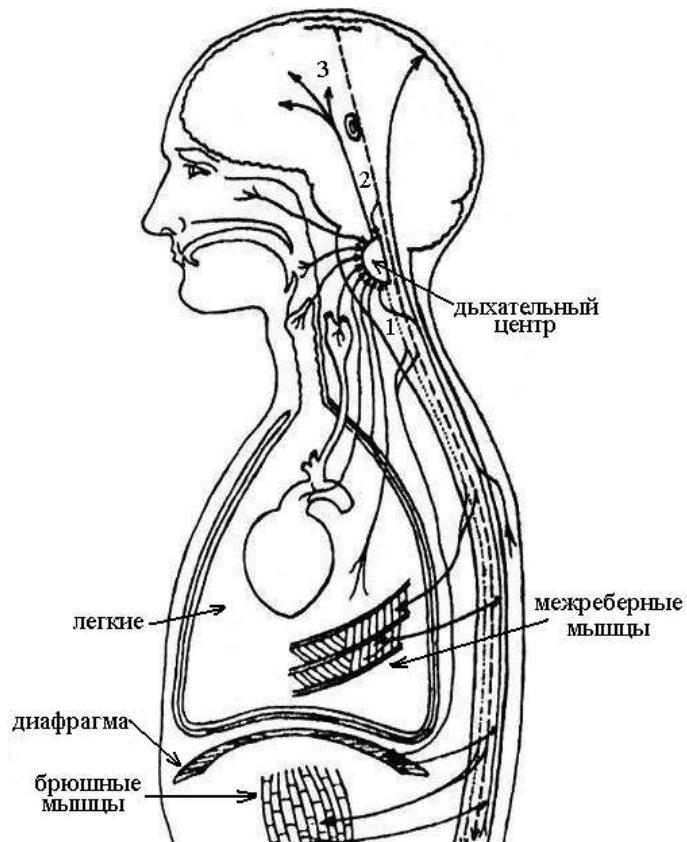


Рис. 1.2. Схема регуляции дыхательной системы (По: Сафонов, Миняев, Полунин, 2000; с изменениями.). 1 – нисходящие двигательные пути от бульбарного дыхательного центра к дыхательным мышцам, 2 – нисходящие двигательные пути от коры больших полушарий к дыхательным мышцам, 3 – пути иррадиации импульсов из дыхательного центра в супрабульбарные отделы головного мозга.

Основным звеном центральной регуляции дыхания является дыхательный центр (ДЦ), расположенный в продолговатом мозге, который осуществляет свою работу на основе постоянного получения сигналов о состоянии внутренней среды, которые поступают от периферических и центральных хеморецепторов, а также с mechanoreцепторов воздухоносных путей, легких и дыхательных мышц.

1.1.1. Структурно-функциональная организация дыхательного центра

В соответствии с современным монистическим пониманием, основанным на представлениях Н.А. Миславского и М.В. Сергиевского, дыхательный центр представляет собой ограниченный участок продолговатого мозга, разрушение которого ведет к необратимой остановке самостоятельного дыхания. При этом возможность регистрации дыхательных ответов при электрической стимуляции различных супрабульбарных структур, включая кору головного мозга, объясняется не наличием в них отдельных «дыхательных центров», а существованием функциональных связей супрабульбарных структур с единственным дыхательным центром, расположенным в продолговатом мозге и получающим разнообразную афферентацию от различных структур и систем организма (Меркулова и др. 2007).

В современной литературе наряду с термином «дыхательный центр» часто используются такие термины как «бульбо-понтийский дыхательный механизм», «центральный дыхательный механизм». Это определяется тем, что в регуляции дыхательных движений участвует сложная структурно-функциональная совокупность различных центральных структур, обеспечивающих полноценное дыхание. К ним относятся кроме бульбарных нейрональных структур, нейронные комплексы варолиевого моста и более ростральных супрабульбарных структур.

Бульбарный дыхательный центр рассматривается, прежде всего, как совокупность дыхательных нейронов, активность которых синхронизирована с фазами дыхательного цикла (Сафонов и др., 1980; Bianchi et al., 1995). В настоящее время общепринята классификация дыхательных нейронов, в соответствии с которой они подразделяются на шесть основных типов в зависимости от паттерна их активности: ранние инспираторные, инспираторные с нарастающим паттерном активности

сти, поздние инспираторные, постинспираторные, экспираторные с нарастающим паттерном активности, преинспираторные (Bianchi et al., 1995) (рис.1.3).

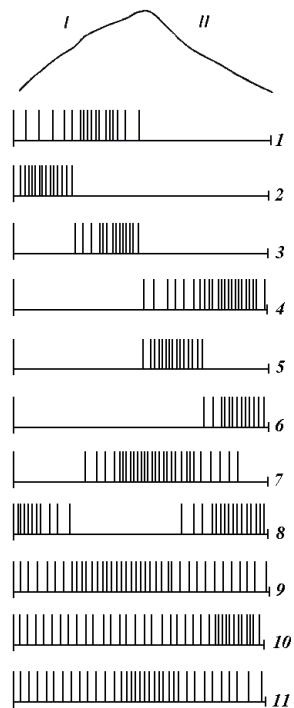


Рис. 1.3. Активность различных типов дыхательных нейронов в связи с фазами дыхательного цикла.

I – вдох; II – выдох. Импульсация дыхательных нейронов: 1 – полных, 2 – ранних и 3 – поздних инспираторных; 4-6 – полных, ранних и поздних экспираторных соответственно; 7 – инспираторно-экспираторных; 8 – экспираторно-инспираторных; 9-11 – обладают непрерывной активностью с усилением в разные фазы цикла (Сафонов и др. 2000).

Внутриклеточная регистрация биоэлектрической активности дыхательных нейронов показала связь между паттерном их активности, соответствующим определенной фазе дыхательного цикла, и изменениями мембранныго потенциала (см. Меркулова и др. 2007). Так, мембрана *ранних инспираторных нейронов* быстро деполяризуется в начале вдоха, и постепенно реполяризуется к концу вдоха, сопровождаясь угасанием инспираторной активности. Реполяризация мембранны этих нейронов является максимальной в постинспираторную фазу, затем наблюдается медленная деполяризация. *Инспираторные нейроны с нарастающим паттерном активности* прогрессивно деполяризуются в течение всей инспираторной фазы быстро реполяризуюясь в конце вдоха, что вызывает резкое снижение их активности. Небольшой уровень активности этих нейронов сохраняется в постинспираторную фазу, во время второй стадии экспираторной фазы их мембрана гиперполяризуется и активность отсутствует. *Поздние инспираторные нейроны* характеризуются деполяризацией мембранны в конце инспираторной фазы. Мембрана этих нейронов быстро реполяризуется с наступлением постинспираторной фазы. Реполяризация продолжается в начале инспирации при этом их активность отсутствует.

Предполагается, что поздние инспираторные нейроны могут играть важную роль в выключении вдоха. *Постинспираторные нейроны*, имеют затухающий паттерн активности и характеризуются быстрой деполяризацией в конце вдоха с последующей медленной реполяризацией на протяжении выдоха. *Экспираторные нейроны с нарастающим паттерном актиности* имеют нарастающую деполяризацию мембранны на выдохе и гиперполяризацию на вдохе. *Преинспираторные нейроны* характеризуются быстрой деполяризацией мембранны и залпом активности непосредственно перед началом вдоха и вторичной, гораздо более слабой активацией в конце инспираторной фазы. Показано, что преинспираторные нейроны pH-чувствительны, что указывает на возможность их непосредственного участия в механизме центральной хеморецепции. Они имеют своеобразный паттерн активности: их активность непосредственно предшествует появлению разрядов в корешках диафрагмального нерва C4-C5, затем в период генерации инспираторной активности преинспираторные нейроны затормаживаются и вновь активизируются только после окончания вдоха, в постинспираторную fazу.

Нейронные образования бульбарного дыхательного центра подразделяются на две крупные группы, расположенные в вентролатеральном отделе ядра солитарного тракта (дорсальная дыхательная группа) и в области n.ambiguus и n.retroambigualis (центральная дыхательная группа), которая в свою очередь подразделяется на ростральную (инспираторную) и каудальную (экспираторную) части (рис.1.4). В наиболее ростральной части центральной дыхательной группы локализованы комплекс пре-Бётцингера и комплекс Бётцингера (см. обзоры: Long, Duffin, 1986; Euler, 1986).

Дорсальная респираторная группа состоит преимущественно из инспираторных нейронов (96%). В этой области находится два различных типа нейронов, впервые описанных Baumgarten и Kanzow, которые классифицировали их как R_α и R_β нейроны на основании их ответов на раздувание легких (Baumgarten, Kanzow, 1958). В дальнейшем их стали обозначать как α- и β-инспираторные нейроны (I_α и I_β). Нейроны I_α при растяжении легких тормозятся, а нейроны I_β – активируются. I_β – нейроны получают афферентную импульсацию от рецепторов растяжения легких. Позднее в области ДРГ был обнаружен еще один тип инспираторных нейронов Р-клетки (Ezure, Tanaka, 1996). Активность Р-клеток полностью определяется

объемом легких. Так же как и β -инспираторные нейроны Р-клетки участвуют в реализации рефлексов Геринга-Брейера.

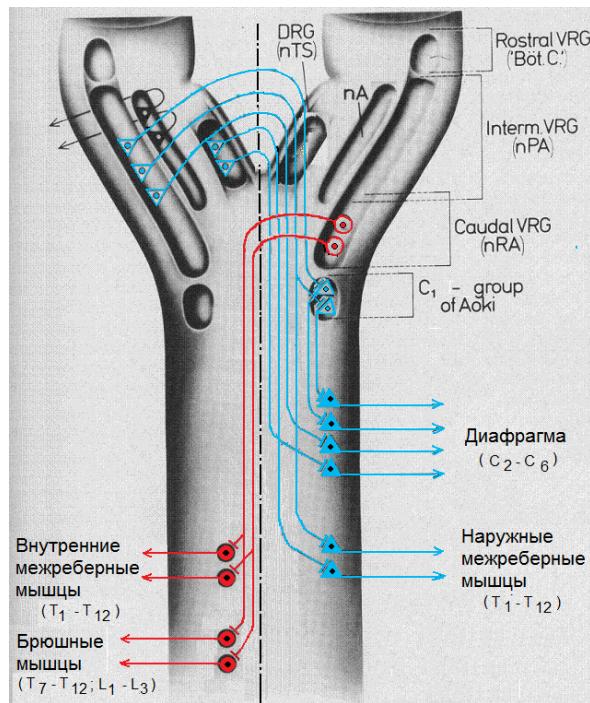


Рис. 1.4. Схема расположения нейронов дорсальной (ДРГ) и вентральной респираторных групп (ВРГ) дыхательного центра продолговатого мозга (Long, Duffin, 1986; с изменениями). Обозначения: DRG – дорсальная респираторная группа; Rostral VRG – ростральный отдел вентральной респираторной группы; Intermed VRG – интермедиальный отдел вентральной респираторной группы; Caudal VRG – каудальный отдел вентральной респираторной группы; nA – амбикульарное (двойное) ядро; nTS – ядро солитарного тракта; nPA – параамбикульарное ядро; nRA – ретроамбикульарное ядро; C₁-C₆ – шейные сегменты спинного мозга; T₁-T₁₂ – грудные сегменты спинного мозга; L₁-L₃ – поясничные сегменты спинного мозга.

Нейроны I_a имеют паттерн активности с возрастающей частотой разрядов и направляют свои аксоны преимущественно в контрлатеральные сегменты спинного мозга (70-80 %), около 10 % имеют ипсолатеральные спинальные проекции (Bianchi, 1971). Аксоны α -инспираторных нейронов перекрещиваются в продолговатом мозге, прежде чем спуститься на другую сторону спинного мозга, и оканчиваются в грудных сегментах, иннервируя паракстernalные и наружные межреберные мышцы (Merrill, 1981). Достаточная часть этих аксонов посылают коллатерали к диафрагмальным мотонейронным пулам. Проекции от I_a нейронов к спинальным мотонейронам, иннервирующими диафрагму, являются моносинаптическими (Со-

hen et al., 1974; Сергиевский и др., 1975). Кроме спинальных проекций, большинство нейронов I_α имеют коллатерали на уровне продолговатого мозга, которые оканчиваются среди инспираторных нейронов центральной дыхательной группы в области NPA, главным образом на той же самой стороне. Обнаружены также немногочисленные коллатерали к группе экспираторных нейронов в ипсилатеральном NRA.

Вентральная дыхательная группа расположена в области параамбигуального (n. para-ambigualis, NPA), ретроамбигуального (n. retroambigualis, NRA) и ретрофациального (n. retrofacialis, NRF) ядер. Структурно-функционально эта группа нейронов разделяется на три различные части (Euler, 1981).

Каудальная часть (1 мм каудальнее obex) содержит только экспираторные нейроны, которые являются бульбоспинальными нейронами и направляют свои аксоны к контрлатеральным мотонейронам спинного мозга (Merril, 1970; Ballantyne, Richter, 1986). Перекрест осуществляется на уровне продолговатого мозга каудальнее obex. Данные экспираторные нейроны контактируют моносинаптически с экспираторными мотонейронами грудных и поясничных сегментов спинного мозга (Miller et al., 1985), обеспечивая, по-видимому, управление экспираторными межреберными мышцами и мышцами брюшного пресса. Поэтому их можно считать экспираторными премоторными нейронами. Аксоны этих нейронов не имеют коллатералей в области продолговатого мозга, а следовательно не контактируют ни с инспираторными, ни с экспираторными нейронами, ни в дорсальной, ни в вентральной респираторной группе. Однако, посредством внутриклеточной регистрации показано, что экспираторные премоторные нейроны тормозятся во время инспираторной фазы. Нейрональное происхождение этого торможения точно не установлено. Предполагается, что оно производится нейронами, обнаруженными в интермедиальной части ВРГ, названными ранними инспираторными нейронами. Торможение осуществляется, по-видимому, посредством холинэргического механизма. Премоторные экспираторные нейроны получают также возбуждающие импульсы от экспираторных нейронов комплекса Бётцингера (Merrill, 1981).

Сравнительно недавно был открыт респираторный нервный механизм в латеральном центральном сером веществе первого и второго цервикального сегмента (Aoki et al., 1980). Скопление этих нейронов можно рассматривать как каудальное

продолжение ВРГ. Оно содержит главным образом инспираторные нейроны, которые получают импульсы от инспираторных бульбоспинальных нейронов контролateralного НРА. Эта группа инспираторных нейронов проецируется главным образом на диафрагмальный мотонейронный пул на ипсилатеральной стороне. На торакальные уровни проекций не обнаружено.

Интермедиальная часть вентральной респираторной группы содержит в основном инспираторные нейроны, с небольшим количеством экспираторных. Большая часть инспираторных нейронов этой области являются бульбоспинальными нейронами. Их паттерн активности похож на паттерн активности диафрагмальных мотонейронов и характеризуется увеличением скорости разрядов во время инспирации с пиком активности в конце этой фазы. Эти нейроны являются инспираторными премоторными нейронами, т. к. их аксоны на уровне спинного мозга имеют интенсивные синаптические связи с контролateralными диафрагмальными мотонейронами, мотонейронами вентральных рогов грудных сегментов (Feldman et al., 1985), а также с инспираторными нейронами верхних шейных сегментов (Hoskin, Duffin, 1987). Перекрест осуществляется на уровне продолговатого мозга. Только менее 10 % премоторных инспираторных нейронов имеют неперекрещивающиеся спинальные проекции. На бульбарном уровне от аксонов инспираторных нейронов отходят ипсилатеральные коллатерали к нейронам ретикулярной формации, к ядру подъязычного нерва, моторному ядру блуждающего нерва (Sasaki et al., 1989). Обнаружены также аксонные коллатерали ветвящиеся среди инспираторных нейронов этой области (т.е. в области НРА) преимущественно контролateralно к соме. Иногда встречаются внутримедулярные коллатерали, оканчивающиеся на экспираторных премоторных нейронах в NRA, но только контролateralно. Очень важно, что не обнаружено ни ипси- ни контролateralных коллатералей от инспираторных нейронов ВРГ к нейронам ДРГ. Связи существуют только в противоположном направлении, т. е. группа инспираторных премоторных нейронов в ВРГ (НРА) получает проекции от инспираторных нейронов ДРГ.

Ростральную часть ВРГ образует популяция экспираторных нейронов с нарастающим паттерном активности, сосредоточенная в области ретрофациального ядра (NRF). Популяция этих нейронов названа комплексом Бётцингера (см. об-

зор Euler, 1986). Экспираторные нейроны этой популяции имеют синаптические контакты с инспираторными нейронами дорсальной респираторной группы и с инспираторными и экспираторными премоторными нейронами центральной респираторной группы. Обнаружены также тормозные проекции на диафрагмальные мотонейроны (Fedorko, Merrill, 1984). Эти проекции могут обеспечивать супраспинальное торможение диафрагмальных мотонейронов во время экспираторной фазы. Нейроны комплекса Бётцингера играют роль в регуляции паттерна дыхания также посредством активного торможения инспираторных бульбоспинальных нейронов ДРГ во время экспирации.

Важная роль в генерации дыхательного ритма принадлежит также комплексу пре-Бётцингера – группе нейронов, расположенных в ростральной части н. ambiguus и вентро-латеральной области ретикулярной формации продолговатого мозга каудальнее ретрофациального ядра (Smith et al., 1991; Schwarzacher et al., 1995). Здесь обнаружены нейроны с пейсмекерными свойствами, генерирующие ритмичные залпы активности даже в условиях полной синаптической блокады. Удаление комплекса пре-Бётцингера приводит к прекращению генерации дыхательного ритма *in vitro* (Smith et al., 1991). Комплекс пре-Бётцингера содержит разнообразные типы дыхательных нейронов: проприобульбарные и бульбоспинальные нейроны, а также краиальные мотонейроны. Большое количество нейронов с залповой активностью в области пре-Бётцингера комплекса, по мнению самарских физиологов, отражает высокую степень потенциального участия нейронов данного отдела дыхательного центра в респираторном ритмогенезе (Меркулова и др. 2007).

Медиальная область дыхательного центра. Кроме инспираторных и экспираторных нейронов в дыхательном центре находятся ретикулярные нейроны – клетки, паттерн активности которых не связан с фазами дыхательного цикла. В латеральной зоне дыхательного центра ретикулярных нейронов немного, подавляющее большинство этих нейронов находится в медиальной области дыхательного центра. Они не имеют моносинаптических связей с мотонейронами дыхательных мышц, осуществляя свое действие на них (возбуждающее или тормозное) через интернейроны. Убедительно показано, что в медиальной зоне имеются нейронные группировки, участвующие в формировании дыхательного акта. Их стимуляция может вызывать переключение дыхательных фаз и оказывает сложное действие на

дыхательные нейроны латеральной области (Кедер-Степанова, 1981). Физиологическая роль нейронов медиальной области изучена в меньшей степени, чем роль дыхательных нейронов.

Понтинная дыхательная группа. Особое место среди структур, принимающих участие в регуляции дыхания, занимают нейронные структуры варолиева моста. Понтинные нейроны, активность которых синхронна с дыхательными фазами, обнаружены в основном в парабрахиальных ядрах и ядрах Келлика-Фьюза. Эта область варолиева моста называется пневмотаксическим центром. В состав pontинной дыхательной группы входят инспираторные, экспираторные и постинспираторные нейроны. Предполагается, что нейроны pontинной группы принимают непосредственное участие в механизмах переключения дыхательных фаз, т.к. среди них находится большой процент нейронов, пик активности которых приходится как раз на момент смены дыхательных фаз (Cohen, Shaw, 2004). Pontинные структуры имеют многочисленные афферентные и эфферентные связи с нейронами бульбарного дыхательного центра и активно участвуют в модуляции паттерна дыхания и реализации важнейших дыхательных рефлексов (Chamberlin, 2004). Разрушение ростральной части моста или его удаление приводит к появлению патологических типов дыхания (апнейзисы, гаспинг). В соответствии с современными представлениями pontинная дыхательная группа играет важную роль в поддержании нормального дыхательного ритма.

1.1.2. Хеморецепторные механизмы регуляции дыхания

Дыхательная система содержит два основных контура регуляции: механорецепторный и хеморецепторный, который поддерживает постоянство химического состава внутренней среды организма при помощи центральных и периферических хеморецепторов. Центральные хеморецепторы расположены в центральной нервной системе – на вентральной поверхности продолговатого мозга, а периферические – в области бифуркации общих сонных артерий и в области дуги аорты. Высокая чувствительность центральных и периферических хеморецепторов к химическим стимулам обеспечивает возможность поддержания адекватного уровня

кислорода, углекислого газа и кислотно-основного равновесия крови, цереброспinalной жидкости и внеклеточной жидкости мозга.

1.1.2.1. Центральные хеморецепторы

Особо важную роль в регуляции дыхания играют центральные хеморецепторы, расположенные в продолговатом мозге. Именно благодаря их активации при изменении pH и PCO₂ спинномозговой жидкости и внеклеточной жидкости мозга, а следовательно, и артериальной крови, снабжающей мозг, обеспечивается поддержание постоянства химизма внутренней среды.

Центральные хеморецепторы были открыты в 50-х годах XX века (Leusen, 1954). Их называют медуллярными т.к. они расположены на вентральной поверхности продолговатого мозга, в области, где из ствола мозга выходят корешки подъязычного нерва. Здесь находятся две основные хемочувствительные зоны, при орошении которых растворами CO₂ у бодрствующих животных возникает рост легочной вентиляции. В 70-х годах было установлено, что они оказывают влияние на деятельность дыхательного центра и тем самым изменяют вентиляцию легких. (Leusen, Weyne, 1983; Loeschke, 1973; Mitchell, 1970). Таким образом, химическая и электрическая стимуляция хемочувствительных зон усиливает инспираторную активность дыхательного центра. Сдвиг внутритканевого pH является наиболее выраженным фактором в механизме действия углекислоты на центральные хеморецепторы (Атьков, Бедненко, 1989; Бреслав, Пятин, 1994; Loeschke, 1973).

В настоящее время выделяют три основные зоны скопления хеморецептивных клеток: M-зона, расположенная латеральнее пирамидных трактов и каудальнее нижней границы моста; L-зона – медиальнее корешков подъязычного нерва; зона S, располагающаяся между вышеперечисленными зонами (Loeschke et al., 1970; Schalaefke et al., 1970). Эти зоны обозначаются также, как ростральная, каудальная хемочувствительные зоны и промежуточная зона, которая, по-видимому, осуществляет связь хеморецепторов с дыхательным центром (см. Бреслав, Ноздрачев, 2005).

Каудальная зона включает нейроны, располагающиеся от позвоночных артерий до корешков подъязычного нерва. Основная часть нейронов этой группы

располагается на глубине 120-140 мкм от центральной поверхности продолговатого мозга (Бреслав, Пятин, 1994). В промежуточной зоне было выделено два типа нейронов: мелкие, округлые клетки с диффузным распределением вещества Нисселя, и крупные, мультиполярные (с одним аксоном и несколькими дендритами) нейроны с уплотненным расположением вещества Нисселя. Клетки этой зоны контактируют с ядрами ретикулярной формации, в частности с парагигантоклеточным ядром. Кроме того, в этих зонах были также обнаружены мелкие клетки веретенообразной формы, однако их количество по сравнению с остальными нейронами сравнительно невелико. Нейроны ростральной группы представлены преимущественно типичными крупными мультиполярными клетками.

Хемочувствительные клетки способны возбуждаться при увеличении концентрации углекислого газа в окружающих их жидких средах – в крови, цереброспинальной жидкости и внеклеточной жидкости мозга, а также при изменении pH, и увеличивать импульсацию, поступающую к ядрам дыхательного центра. Важно отметить, что в результате современных исследований с применением pH-чувствительных электродов (Менакер, 2008) было уточнено, что возбуждение хемочувствительных нейронов происходит при повышении концентрации ионов водорода именно во внеклеточной жидкости мозга, а не в крови или спинномозговой жидкости, как считалось ранее (Уэст, 1988).

Нейроны, реагирующие на изменение напряжения углекислого газа и pH, были обнаружены и в других областях мозга, например, серотонинергические нейроны областей заднего мозга (Менакер, 2008). Кроме того, некоторые исследователи предполагают, что pH-зависимые хеморецепторы могут располагаться не только на вентролатеральной поверхности продолговатого мозга, но и в его сером веществе, на глубине 30-35 мкм (периваскулярные нейроны продолговатого мозга), или в субпиальных отделах каудального участка центральной поверхности, вблизи обоюдного ядра и ядра одиночного пучка (Oyamada et al., 1998). Однако способность этих и подобных им нейронов передавать сигналы в дыхательный центр не доказана.

Стимулами, вызывающими повышение импульсации от медуллярных хеморецепторов, являются повышенные концентрации H^+ и CO_2 в омывающей их жидкости. Причем до недавнего времени оставалось неясным действует ли углекислый

газ напрямую на хеморецепторные клетки, возбуждая их, или опосредованно, через изменение pH. Известно, что при дыхательном ацидозе (нарушение кислотно-основного состояния крови, сопровождающееся повышением кислотности) увеличенное напряжение углекислого газа в крови вызывает увеличение диффузии CO₂ через гемато-энцефалический барьер (рис. 1.5). В свою очередь, такое увеличение CO₂ в омывающей хеморецепторы внеклеточной жидкости приводит к росту концентрации H⁺ (и следующему за этим изменению pH), являющейся стимулом для возбуждения хеморецепторных клеток (Пятин, 1979). Таким образом, действие CO₂ на медуллярные хеморецепторы является опосредованным. Основным, первично возбуждающим стимулом является увеличение концентрации водородных ионов и сдвиг pH в кислую сторону.

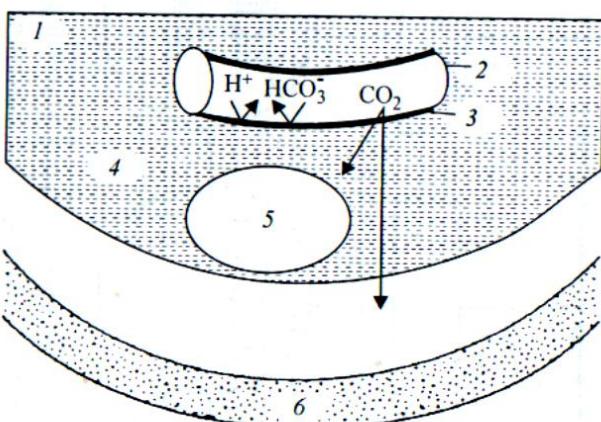


Рис. 1.5. Схема функционирования хемочувствительного элемента (По: Уэст, 1988). 1 – ткань мозга; 2 – кровеносный сосуд; 3 – гемато-энцефалический барьер; 4 – внеклеточная жидкость мозга; 5 – хеморецептор; 6 – стенка черепа.

Однако данные зарубежных исследований позволяют предполагать, что PCO₂ и [H⁺] могут быть независимыми стимулами центральной хеморецепции (Eldridge, Kiley, Millhorn, 1985; Менакер, 2008). Так, реакция дыхательной системы, выражаясь в увеличении активности диафрагмального нерва, была значительно выше во время дыхательного ацидоза, когда на медуллярные хеморецепторы действовали оба стимула – PCO₂ и [H⁺], по сравнению с реакцией на инфузии соляной кислоты (рис. 1.6). В соответствии с этими данными можно говорить о раздельном влиянии углекислого газа и pH на центральные хеморецепторы, хотя

молекулярные механизмы действия этих стимулов остаются не выясненными до настоящего времени.

Механизмы действия центральных хемочувствительных структур в регуляции дыхания рассматриваются с двух позиций. В соответствии с первой позицией, функцию центральных хеморецептивных структур выполняют мультиполлярные нейроны, лежащие в непосредственной близости от микрососудов головного мозга. При изменении рН внеклеточной жидкости мозга не более чем на 0,01 единицы, они изменяют свою электрическую и метаболическую активность, в связи с чем, происходят перестройки в дыхательном центре. Причем раздражение этих структур осуществляется непосредственно со стороны крови, через гематоэнцефалический барьер.

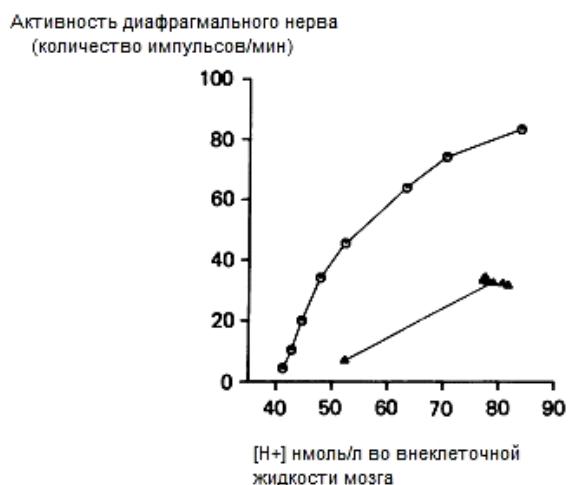


Рис. 1.6. Отношение между концентрацией ионов водорода в межклеточной жидкости мозга и минутной активностью диафрагмального нерва у анестезированных кошек. Кривая с кружками – при дыхательном ацидозе; кривая с треугольниками – при метаболическом ацидозе (инфузия соляной кислоты) (По: Eldridge, Kiley, Millhorn, 1985).

Вторая позиция (Schlaefke, 1981) не исключает возможности участия в хеморецепторном контуре регуляции парагигантоклеточного ядра ретикулярной формации, которое связано афферентными путями со структурами моста, регулирующими дыхание. Предполагается, что здесь задействован холинергический механизм передачи, на характер которого и может влиять сдвиг рН внеклеточной жидкости мозга.

Медуллярные хеморецепторы очень чувствительны к изменению химизма омывающей их жидкости. Даже незначительный сдвиг рН вызывает незамедли-

тельную реакцию в виде изменения вентиляции легких. Показано, что у человека снижение рН ликвора на 0,01 вызывает рост минутной вентиляции легких на 4 л/мин. Однако, хотя центральные хеморецептивные зоны являются очень чувствительными, их латентный период действия при изменениях внутренней газовой среды несколько больше, чем у периферических хеморецепторов. По-видимому, это связано, прежде всего, со временем, затраченным на диффузию углекислого газа через гемато-энцефалический барьер, поскольку прямое раздражение хеморецептивных зон вызывает вентиляторную реакцию в течение трех секунд (Бреслав, Глебовский, 1981).

Обобщая вышесказанное, можно утверждать, что бульбарные хеморецепторы занимают решающее место в реакциях респираторной системы на гиперкапнию и ацидоз. Именно они обусловливают повышение инспираторной активности дыхательного центра и увеличение легочной вентиляции в таких условиях.

1.1.2.2. Периферические хеморецепторы

К периферическим относят хеморецепторы каротидных и аортальных рефлексогенных зон в области бифуркации сонных артерий и дуги аорты, которые были открыты и изучены в 30-е годы XX века. Показано, что хеморецепторы, расположенные в каротидном теле, обладают высокой чувствительностью к пониженному PaO_2 (Ардашникова, Шик 1948; Ардашникова, 1966; Бреслав, 1980, 1984). При изолированной перфузии каротидного тела кровью или раствором с низким парциальным давлением кислорода происходит увеличение вентиляции легких, несмотря на то, что дыхательный центр снабжается кровью нормального состава. Таким образом понижение PaO_2 не обладает прямым возбуждающим действием на дыхательный центр, а хеморецепторы каротидного тела и дуги аорты являются единственными образованиями, обуславливающими влияние пониженного парциального давления кислорода на дыхание. Раздражение хеморецепторов вызывает рефлекторное увеличение легочной вентиляции (Самойлов, 1983; Somers et al., 1991).

Каротидное тело расположено между наружной и внутренней сонными артериями, т.е. в области бифуркации общей сонной артерии. От рецепторов каро-

тидного тельца хеморецепторная информация передается по языгоглоточному нерву IX и достигает ядра солитарного тракта через каменистый ганглий, в котором сосредоточены клеточные тела хеморецепторных и барорецепторных афферентных нейронов (рис. 1.7). Сосуды внутри каротидного тельца иннервируются симпатическими нервами от верхнего шейного ганглия.

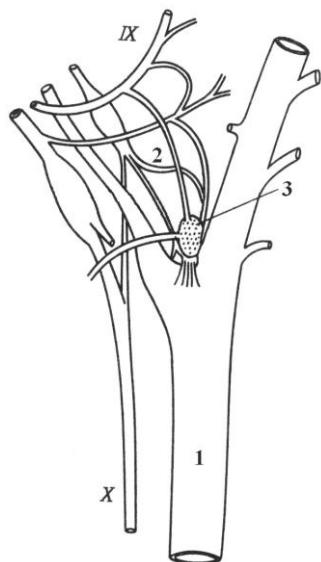


Рис. 1.7. Синокаротидная рефлексогенная зона (по: КАО, 1972, с изменениями). IX – языгоглоточный нерв; X – блуждающие нервы; 1 – общая сонная артерия, 2 – синусный нерв, 3 – каротидное тело.

Каротидное тельце (каротидный клубочек, гломуз) представляет собой инкапсулированное образование, имеющее сложную капиллярную структуру с большим количеством артериоло-венулярных анастомозов. Кровоток через клубочек достаточно интенсивен. Данные рецепторы чувствительны не только к снижению напряжения кислорода, но и к его содержанию в крови, которое уменьшается при анемии.

В пространстве между капиллярами каротидного клубочка находятся клетки двух типов (рис. 1.8). Хеморецепторными являются гломузные клетки I типа, заполненные электронно-плотными везикулами с биогенными аминами. Эти близко прилегающие к капиллярам клетки являются пресинаптически-подобными элементами, которые образуют синапсы с афферентными волокнами синусного нерва (нерв Геринга), который является ветвью языгоглоточного нерва. Клетки II типа, не содержащие везикул, своими отростками окружают клетки I типа. Полагают, что клетки I типа действуют как сенсоры кислорода (Смирнов, 1945; Biscoe, 1971; Самойлов, 1977 и др.)

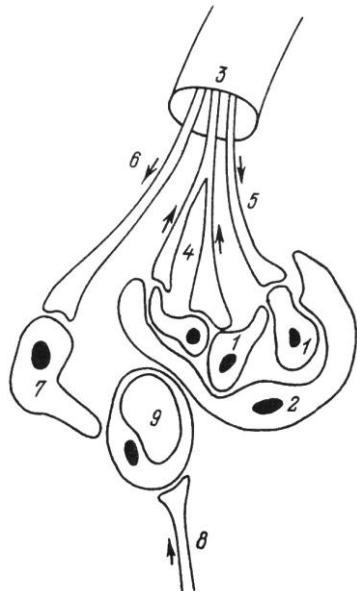


Рис. 1.8. Схема иннервации клеток каротидного тельца (По: Biscoe, 1971, с изменениями. Цит. По Бреслав, Глебовский, 1981).

1 – клетки I типа; 2 – клетки II типа; 3 – синусный нерв; 4 – его афферентные волокна; 5 – эфферентное волокно; 6 – парасимпатическое преганглионарное волокно; 7 – клетки парасимпатического ганглия; 8 – симпатическое преганглионарное волокно; 9 – кровеносный сосуд.

Небольшая афферентная активность синусного нерва регистрируется и при нормальном напряжении кислорода в артериальной крови. Однако при снижении артериального PaO_2 , ниже 75 мм рт.ст. она резко повышается, а при дальнейшем снижении PaO_2 рост активности синусного нерва имеет гиперболическую зависимость от снижения PaO_2 . Установлено, что в гораздо большей степени каротидные хеморецепторы реагируют именно на снижение напряжения кислорода в артериальной крови, а не на уменьшение его содержания (Santiago et al., 1975).

Механизм трансдукции гипоксического сигнала каротидными тельцами. В настоящее время активно изучаются клеточные и молекулярные механизмы активации гломусных клеток каротидного тела при гипоксии, производятся поиски молекул, которые могли бы служить непосредственными кислородными сенсорами в каротидных тельцах, однако окончательное представление об этих процессах пока не сформировано (Филиппова, Ноздрачев, 2011). В качестве сенсоров кислорода рассматриваются гемсодержащие белки, т.е. белки соединенные с небелковой (простетической) группой, представляющей собой комплексное соединение порфиринов с двухвалентным железом. Гемсодержащими белками являются гемоглобин, миоглобин, цитохромы и др. К этому классу сложных белков относятся также

нейрональная NO-синтаза (NOS) и гемм-оксигеназа (НО-2), которые экспрессируются соответственно в нервных волокнах, иннервирующих каротидное тело и в гломусных клетках и катализируют образование NO и CO. Для проявления их активности необходим молекулярный кислород. Поэтому предполагается, что гипоксия увеличивает активность гломусных клеток каротидного тела путем торможения NOS и HO-2, что в свою очередь уменьшает синтез NO и CO, оказывающих ингибирующее действие на активность каротидных телец. В качестве сенсора кислорода рассматривается и NADPH-оксидаза, также экспрессируемая гломусными клетками и нуждающаяся в молекулярном кислороде для проявления своей катализитической активности (Prabhakar, 1999; Acker et al., 1989; цит. по Филиппова, Ноздрачев, 2011).

В качестве сенсоров кислорода рассматриваются также ингибируемые гипоксией кислород-чувствительные K^+ -каналы, белки которых экспрессируются гломусными клетками каротидных телец. Предполагается следующий механизм действия гипоксии. Уменьшение напряжения кислорода в артериальной крови тормозит калиевый ток, закрывая K^+ -каналы и вызывает деполяризацию гломусных клеток. Изменение мембранныго потенциала открывает потенциал зависимые Ca^{+2} -каналы, увеличивает входящий ток Ca^{+2} и его выход из внутриклеточных депо, а соответственно и концентрацию Ca^{+2} цитозоле. Это стимулирует секрецию трансмиттера и его выброс в синаптическую щель. Как известно, гломусные клетки каротидных телец содержат широкий спектр и тормозных (допамин, ГАМК, NO и др.) и возбуждающих медиаторов (ацетилхолин, адреналин, субстанция P, АТФ и др.). В результате происходит изменение афферентной активности синусного нерва. По всей вероятности полноценная трансдукция сигнала гломусными клетками включает в себя взаимодействие между гемсодержащими белками и белками кислород чувствительных калиевых каналов (обзор см. Филиппова, Ноздрачев, 2011).

Хеморецепторная активность каротидных телец усиливается не только при гипоксии, но и при увеличении напряжения CO_2 и концентрации ионов водорода в артериальной крови, но в меньшей степени. По своей основной функции периферические хеморецепторы являются прежде всего сенсорами недостатка кислорода.

В дуге аорты, во второй хеморецепторной зоне артериального русла, находятся аортальные тельца. Это мелкие образования, сходные по структуре и функ-

ции с каротидным тельцем. Они иннервируются аортальным нервом (нерв Циона, ветви блуждающего нерва), активируются при снижении напряжения кислорода в крови и практически не реагируют на гиперкапнию и ацидоз. Их роль в регуляции легочной вентиляции человека незначительна.

Артериальные хеморецепторы, информируют центральную нервную систему о системной гипоксии, и таким образом, защищают организм от ее губительного воздействия. После их удаления или денервации исчезает компенсаторный рост легочной вентиляции при понижении содержания кислорода во вдыхаемой смеси. Однако у крыс после деафферентации синокаротидных и аортальных зон вентиляторные реакции на гипоксию пропадают лишь временно; вскоре они восстанавливаются и даже после повторной обработки тех же зон больше не нарушаются, что исключает возможность прорастания новых афферентных волокон в денервированные зоны (Бреслав, Конза, 1975). Этот факт, получивший подтверждение, доказывает существование иных чувствительных к недостатку кислорода образований, которые находятся также где-то в артериальном русле, судя по динамике наблюдаемых реакций. Весьма вероятно, что организм может располагать какими-то резервными хеморецепторами, способными брать на себя функцию кислородных сенсоров, помимо синокаротидных и аортальных.

Нейроэпителиальные тельца. Аналогично каротидным и аортальным тельцам, расположенным в кровеносном русле, хемочувствительную функцию в дыхательных путях выполняют нейроэпителиальные тельца, регистрирующие содержание кислорода во вдыхаемом воздухе. Они расположены в местах ветвления воздухоносных путей и состоят из 4-25 нейроэндокринных клеток, снабжённых микроворсинками и контактирующих с чувствительными нервными окончаниями и капиллярами. Нейроэпителиальные тельца имеют сложную тройную иннервацию. Они иннервируются веточками блуждающего нерва, спинальными афферентами (волокна дорсальных корешков спинного мозга) и нитроэргическими внутрилегочными ганглионарными нейронами. Снижение содержания кислорода во вдыхаемом воздухе O_2 ведёт к деполяризации мембранны и возбуждению клеток тельца с последующей секрецией биогенных аминов, которые регулирует тонус стенок бронхов и кровеносных сосудов (обзор см. Филиппова, Ноздрачев, 2011).

Возможно, нейроэпителиальные тельца играют определенную роль в регуляции вентиляционно-перфузионных отношений в легких. Об их роли в системных механизмах регуляции внешнего дыхания пока ничего не известно. Таким образом, основными рецепторами, имеющими прочную функциональную связь с дыхательным центром и способствующими поддержанию постоянства газовой среды организма, по прежнему остаются центральные медуллярные и периферические артериальные хеморецепторы.

1.1.2.3. Реакции дыхательной системы на гиперкапнический и гипоксический стимулы

Гиперкапническая стимуляция дыхания

Гиперкапнический стимул служит главнейшим регулятором дыхания у млекопитающих. Именно в соответствии с уровнем PCO_2 (наряду с pH) во внутренней среде регулируется легочная вентиляция. И.М. Сеченов, Дж. Холден и Дж. Пристли отмечали постоянное для каждого организма парциальное давление двуокиси углерода в альвеолярном газе. (Холден, Пристли, 1937).

Гиперкапнический стимул через посредство медуллярных, и некоторой степени артериальных хеморецепторов, определяет инспираторную активность центрального дыхательного механизма и тем самым объемно-временные параметры дыхательного цикла. С величиной PaCO_2 линейно связан (в определенном диапазоне) минутный объем дыхания (Cegla, 1973; Fukuda et al., 1981; Read et al., 1974).

Количественной мерой реакции на гиперкапнический стимул (или вентиляторной чувствительности к этому стимулу) принято считать изменение вентиляции при дозированном изменении артериального (альвеолярного) PCO_2 , которое обычно достигается методом возвратного дыхания, в расчете на 1 мм рт.ст. прироста PCO_2 (Бреслав, Глебовский, 1981).

У наркотизированных крыс в ходе возвратного дыхания смесью с начальным составом – 4-6 % CO_2 в кислороде наблюдали линейное нарастание дыхательного объема (за счет которого и увеличивалась легочная вентиляция), в то время

как частота дыхания быстро достигала максимума и в дальнейшем не менялась (Fukuda et al., 1981).

Гиперкапническая стимуляция артериальных хеморецепторов носит постоянный характер, подобно гипоксической. Показано, что такая стимуляция начинается при пороговом PaCO_2 – 20-30 мм рт.ст. и, таким образом, имеет место уже в условиях нормального напряжения CO_2 в артериальной крови (около 40 мм рт.ст.). Артериальные хеморецепторы участвуют в поддержании постоянства CO_2 в крови. Этот механизм важен главным образом для осуществления реакций дыхания на быстрые изменения PaCO_2 , в то время как медуллярные хеморецепторы обеспечивают устойчивую стимуляцию дыхания на гиперкапнию и ацидоз. (Песков, Пятин, 1988).

Гипоксическая стимуляция дыхания

Как установили Дж. Холден и Дж. Пристли (Холден, Пристли, 1937) гипоксический стимул существенно уступает гиперкапническому. За счет гипоксической стимуляции легочная вентиляция человека обычно возрастает не более чем вдвое, тогда как при незначительном увеличении содержания двуокиси углерода во вдыхаемом воздухе может наблюдаться восьмикратный рост вентиляции. Действительно, количественный вес гипоксического стимула в поддержании вентиляции в несколько раз меньше гиперкапнического (Бреслав, Жиронкин и др., 1972). Тем не менее, в связи с незначительным содержанием запасов кислорода в организме гипоксическая стимуляция дыхания приобретает жизненно важное значение.

Гипоксия, с одной стороны, стимулирует артериальные хеморецепторы, а с другой – угнетает медуллярные структуры, участвующие в регуляции дыхания. При значительном дефиците кислорода (ингаляция смесей 4-5% O_2) такое угнетение становится преобладающим и это может проявиться в снижении вентиляции, сопряженном с падением артериального PO_2 до 10 мм рт.ст. и ниже. При содержании кислорода во вдыхаемой смеси менее 8% рост вентиляции уже не способствует повышению PaO_2 . При гипоксии нарастает как дыхательный объем, так и частота дыхания за счет укорочения и вдоха, и выдоха. (Mahutte, Rebuck, 1978).

В целом значение гипоксической стимуляции как регулятора дыхания в обычных условиях не велико. Гипоксический стимул дыхания существует только совместно с гиперкапническим драйвом.

Взаимодействие хеморецепторных стимулов

Для поддержания необходимого, при различных метаболических потребностях, уровня вентиляции легких, необходимо постоянное взаимодействие химических стимулов, действующих на хеморецепторы системы дыхания. Иными словами, для поддержания ритмической активности центрального регулятора дыхания необходим хеморецепторный драйв, опосредованный действием гиперкапнического и гипоксического стимулов. Известно, что оба эти стимула тесно связаны между собой, более того, они усиливают влияние друг друга на центральный регуляторный механизм. Так, например, при гипоксии повышается вентиляция легких – гиперпноэ. Это способствует вымыванию двуокиси углерода из организма, в результате чего вентиляция легких падает. Избежать подобного явления возможно, повысив содержание CO_2 в крови, например, при вдыхании газовых смесей с повышенным содержанием CO_2 . В этом случае, гиперкапнический стимул будет способствовать усилению реакции на гипоксию. Нельзя не учитывать, что реакции на гиперкапнический стимул сопровождаются изменением pH жидких сред. Однако, повышение $[\text{H}^+]$ действует на механизм регуляции дыхания сходным с гиперкапническим стимулом образом.

С другой стороны, гипоксический фактор способен усиливать реакции на гиперкапнию (Бреслав, Глебовский, 1981). Разумеется, что подобное взаимное усиление действия обоих стимулов дыхания имеет место лишь при значениях PaCO_2 и PaO_2 , не превышающих пороговые, поскольку в иных случаях наблюдаются необратимые изменения в функционировании центральных структур, регулирующих дыхание.

При выпадении одного из стимулов вентиляция легких заметно ухудшается, вплоть до полной остановки дыхания – апноэ. Такая ситуация наблюдается при значительной гипокапнии, то есть, при выпадении гиперкапнической стимуляции дыхания, когда и гипоксический стимул теряет свое значение. С другой стороны, при выпадении гиперкапнической стимуляции дыхательного центра, стимуляция синусного нерва, вызванная гипоксией, способна предотвратить апноэ, повышая

центральную инспираторную активность. Однако, в то же время, резкая гипоксия может пагубно воздействовать на центральные структуры дыхательной системы, оказывая тормозное влияние.

Взаимодействие гипоксического и гиперкапнического стимулов, по мнению многих авторов (см. Бреслав, Глебовский, 1981), происходит на уровне периферической хеморецепции. Это действительно возможно, т.к. каротидные тела реагируют как на гипоксию, так и на гиперкапнию. Выказывались также предположения и о взаимодействии этих факторов в центральных структурах дыхательной системы (Бреслав, Пятин, 1994), но широкого распространения они не получили. Однако нельзя полностью исключать возможность участия центральных структур в механизме взаимодействия гипоксического и гиперкапнического факторов.

Таким образом, хотя уровень легочной вентиляции регулируется, главным образом, гиперкапническим стимулом, в организме происходит постоянное взаимодействие химических стимулов дыхания – гипоксического и гиперкапнического. Эти стимулы усиливают действие друг друга, а при выключении одного из них значительно ослабляется и эффективность второго. Поскольку метаболические процессы и их изменение в организме сопряжены как с изменением потребления кислорода, так и с продукцией и выведением углекислоты, регуляция легочной вентиляции и ее соответствие метаболизму осуществляется эффективно при постоянном взаимодействии гиперкапнического и гипоксического стимулов.

1.2. Цитокиновая система регуляции физиологических функций

Для поддержания постоянства внутренней среды необходимы механизмы постоянной сигнализации, информирующие центральные и периферические регуляторные системы о любых изменениях, угрожающих гомеостазу. Важнейшими компонентами механизмов сигнализации, наряду с гормонами, нейромедиаторами, являются цитокины. К настоящему времени накоплен целый ряд экспериментальных данных, которые позволяют наряду с нервной и гормональной регуляцией физиологических функций организма выделить в качестве самостоятельной системы регуляции – цитокиновую систему, обеспечивающую развитие защитных реакций организма (Кетлинский, Симбирцев, 2008).

Цитокины – большое семейство биологически активных веществ, обладающих гормоноподобным действием и участвующих в передаче сигналов между клетками иммунной системы и других систем организма. Цитокины действуют преимущественно в рамках иммунных реакций. Большинство из них является эндогенными иммуномодуляторами, обладающими стимулирующими функциями. В настоящее время у человека обнаружено около двухсот различных цитокинов (Симбирцев, 2004). Они формируют своеобразную сеть коммуникационных сигналов – цитокиновую сигнальную сеть. Важно, что цитокины проявляют свою биологическую активность непосредственно в ходе межклеточных взаимодействий, а также дистантно, обеспечивая взаимодействие клеток и систем организма между собой, как в нормальных условиях, так и при изменениях внешней и внутренней среды. Цитокины контролируют протекание иммунных реакций, инициируют формирование воспалительной реакции, участвуют в связывании опухолевых клеток, в регенерации тканей, а также оказывают влияние на функциональное состояние систем организма, и, что особенно важно, на нервную систему, управляющую различными физиологическими функциями.

1.2.1. Общая характеристика и классификация цитокинов

Цитокины – это небольшие полипептиды (мол. масса от 8 до 80 кДа), действующие аутокринно (т. е. на клетку, которая их продуцирует) или паракринно (на клетки, расположенные вблизи). Попадая в кровеносное русло, цитокины могут проявлять гормоноподобную активность, действуя на клетки-мишени находящиеся в отдалении от того места где в данный момент экспрессируются цитокины. С их помощью разнообразные клетки могут обмениваться друг с другом информацией и осуществлять координацию действий. Цитокины являются эндогенными медиаторами, так называемыми «белками связи», которые могут синтезироваться практически всеми ядроодержащими клетками организма, причем гены некоторых цитокинов экспрессируются во всех без исключениях клетках организма. К настоящему времени у человека идентифицировано около двухсот различных цитокинов, и постоянно появляются сообщения об открытии новых. Все цитокины имеют ряд общих биохимических и функциональных характеристик, среди кото-

рых важнейшими считаются следующие: плейотропность (многофункциональность), взаимозаменяемость биологического действия, отсутствие антигенной специфичности, проведение сигнала путем взаимодействия со специфическими клеточными рецепторами, т.к. цитокины не способны диффундировать через плазмолемму.

Цитокины активны в очень малых концентрациях (в пико- и нанограммах). Спектры биологических активностей цитокинов в значительной степени перекрываются: один и тот же процесс может стимулироваться в клетке более чем одним цитокином. Во многих случаях в действиях цитокинов наблюдается синергизм. Так как цитокины являются антигеннеспецифическими факторами, то специфическая диагностика инфекционных, аутоиммунных и аллергических заболеваний с помощью определения уровня цитокинов невозможна. Но определение их концентрации в крови даёт информацию о функциональной активности различных типов иммунокомпетентных клеток; о тяжести воспалительного процесса, его переходе на системный уровень и о прогнозе заболевания. Усиление экспрессии какого-либо одного цитокина влечет за собой усиление экспрессии других цитокинов. Воздействуя на клетку, цитокины связываются со специфическими рецепторами на цитоплазматической мембране и вызывают этим каскадную реакцию, которая ведет к индукции, усилению или подавлению активности ряда регулируемых ими генов (Ройт и др., 2000).

История изучения цитокинов началась в 40-е гг. XX века. Именно тогда были описаны первые эффекты кахексина – фактора, присутствовавшего в сыворотке крови и способного вызывать кахексию или снижение веса тела. В дальнейшем данный медиатор удалось выделить и показать его идентичность фактору некроза опухолей (TNF). В 1979 г. для их обозначения и систематизации был предложен термин "интерлейкины", то есть медиаторы, осуществляющие связь между лейкоцитами. Однако очень скоро выяснилось, что биологические эффекты цитокинов распространяются далеко за пределы иммунной системы, и поэтому более приемлемым стал ранее предложенный термин «цитокины» (Симбирцев, 1998).

Цитокины классифицируются на семейства, хотя единой классификации этих биологически активных веществ до сих пор нет. Наиболее известные семейства цитокинов: интерлейкины (от IL-1 до IL-33); факторы некроза опухолей

(TNF- α , TNF- β и др.); интерфероны (IFN- α , β γ , δ и др.); колониестимулирующие факторы (М-КСФ, Г-КСФ, МГ-КСФ и др); факторы роста (ФРН, ФРЭ); хемокины (хемотаксические цитокины). В настоящее время известно более двухсот эндогенных медиаторов, относящихся к различным семействам цитокинов. Классификация цитокинов основана на их функциональных свойствах, идентичности рецепторов и клеток экспрессирующих тот или иной цитокин. Кроме того, цитокины разделяются на две большие функциональные группы в зависимости от их влияния на процесс воспаления: провоспалительные (IL-1, IL-2, IL-6, IL-15, IL-18, IFN- γ , TNF- α и др.) и антивоспалительные (IL-4, IL-5, IL-10, IL-13, IL-14, и др.) цитокины (Воробьев и др., 2006).

1.2.2. Рецепторы цитокинов и механизм внутриклеточной передачи сигнала

Рецепторы цитокинов по характеру их трехмерной структуры (по конформации аминокислотной последовательности) разделяются на три группы (Ройт и др., 2000):

1. рецепторы, внеклеточная часть которых содержит около 200 аминокислотных остатков (это рецепторы к IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9, IL-12, гранулоцитарному колониестимулирующему фактору, гранулоцитарно-макрофагальному колониестимулирующему фактору);
2. семейство иммуноглобулин-подобных молекул, объединяющая рецепторы к интерферонам, макрофагальному колониестимулирующему фактору, а также рецепторы к IL-1 (α и β);
3. рецепторы к фактору некроза опухолей (ФНО- α и ФНО- β), лимфотоксину, фактору роста нервов (ФРН) и др.

Большинство цитокиновых рецепторов – это мембранные гликопротеины 1 типа, состоящие из одного трансмембранного домена. Хотя действительно функциональные рецепторы, как правило, состоят из двух или большего числа субъединиц. Обычно рецептор содержит «частную» высокоспецифичную субъединицу, способную связывать определенный цитокин, и «общую» субъединицу, которая встречается в рецепторах других цитокинов. Сходная функциональная активность некоторых цитокинов возможно объясняется наличием одинаковых субъединиц в

их клеточных рецепторах. В то же время благодаря дифференциальной экспрессии частных рецепторных субъединиц каждый цитокин обладает и уникальной активностью в отношении клеток определенного типа.

Современные представления о биологической роли цитокинов основаны на изучении механизмов внутриклеточной передачи вызываемых ими сигналов. Первая стадия цитокиновой сигнализации – это агрегация субъединиц рецептора, вызванная присоединением цитокина. Цитоплазматические «хвосты» этих субъединиц, взаимодействуя между собой, запускают нисходящий каскад сигнализации. В самом простом случае одинаковые субъединицы рецепторной молекулы, связавшись с цитокином, образуют гомодимер, в другом случае «частная» субъединица после присоединения цитокина вызывает гетеро- или гомодимеризацию «общих» субъединиц, передающих сигнал внутрь клетки. Практически все цитокиновые рецепторы ассоциированы с молекулами, названными Янус-киназами (Jaks, от англ. Janus kinases). Янус-киназы, названы так благодаря присутствию в одной молекуле двух киназных доменов. Они неактивны пока цитокин не активирует рецептор. Активация цитокиновых рецепторов (агрегация их субъединиц) вызывает активацию Jak за счет их трансфосфорилирования. Затем под действием активированных Янус-киназ происходит фосфорилирование различных сигнальных белков, в том числе белков переносчиков сигнала (Stats, от англ. signal transducers and activators of transcription, т.е. сигнальные трансдукторы и активаторы транскрипции). После фосфорилирования эти белки теряют сродство к рецепторно-киназному комплексу, но преобразуют свойство образовывать димеры. Димеры Stats белков становятся полноценными транскрипционными факторами. Они перемещаются к ядру клетки и связываются непосредственно с ДНК. Каждый цитокин индуцирует различные механизмы внутриклеточной передачи сигнала в зависимости от того, какую из активностей он проявляет – общую с другими цитокинами или специфическую, индивидуальную. Различия в ответах клеток на цитокины возникает на этапе фосфорилирования Stats, поскольку каждый цитокин активирует «свой» набор этих переносчиков сигнала и активаторов транскрипции.

1.2.3. Семейство интерлейкинов

Среди цитокинов выделяется большая группа, обладающая разнообразными функциями – интерлейкины (от ИЛ-1 до ИЛ-18). Интерлейкины синтезируются в основном лейкоцитами, но в некоторых случаях также мононуклеарными фагоцитами или другими тканевыми клетками. Это растворимые пептиды, сильные иммунорегуляторы локального действия. Большинство интерлейкинов стимулирует другие клетки для деления или дифференцировки, при этом каждый из них действует на отдельную, ограниченную группу клеток, экспрессирующих специфичные для данного интерлейкина рецепторы. Функции интерлейкинов связаны с активностью других физиологически активных пептидов и гормонов: эндотелина, пролактина, брадикинина (Agui et al., 1994 , DeVito et al., 1995, Tsukagoshi et al., 1995).

В соответствии с тематикой данной работы наибольший интерес представляет обширное по физиологическим эффектам семейство провоспалительного цитокина интерлейкина-1 (ИЛ-1), тем более, что ИЛ-1 в настоящее время широко внедряется в медицинскую практику в составе лекарственных средств нового поколения – иммунномодуляторов.

Методами рентгеноструктурного анализа установлено, что ИЛ-1 представляет собой глобулу, N- и C-концевые последовательности которой находятся в пространственной близости. Именно эти концевые участки молекулы формируют центр, взаимодействующий с соответствующим рецептором.

Семейство лигандов ИЛ-1 состоит из трех изоформ: ИЛ-1альфа, ИЛ-1бета и ИЛ-1ра (антагонист рецептора ИЛ-1), которые кодируются тремя различными генами, но распознаются одинаковыми рецепторами ИЛ-1 типа I. В семейство ИЛ-1 входят также два мембранных связанных рецептора I и II типа: ИЛ-1R1 и ИЛ-1R2, и ИЛ-1-конвертирующий энзим (ICE). Оба рецептора являются гликопротеидами, принадлежат к семейству иммуноглобулинов и обладают единственным трансмембранным доменом. Каждый рецептор связывается с ИЛ-1альфа, с ИЛ-1бета и с ИЛ-1ра, но с различной аффинностью. Предполагается, что биологические действия ИЛ-1 производятся исключительно при его взаимодействии с рецептором первого типа ИЛ-1R1, тогда как рецептор второго типа ИЛ-1R2 функционирует исключи-

тельно как «ложная цель» или «ловушка», которая ограничивает биодоступность IL-1 для взаимодействия с IL-1R1 и ограничивает проявление его биологического действия. Набор различных типов клеток, несущих рецепторы к ИЛ-1, крайне велик и распространяется практически по всем системам организма.

ИЛ-1альфа и ИЛ-1бета биоактивны и приводят к разнообразным реакциям в клетках-мишенях. ИЛ-1бета первоначально экспрессируется как предшественник, представляющий собой большую молекулу, которая биологически неактивна. Она разделяется на части с массой 17 кД и становится активной под действием ICE. Доминирующей формой у человека является ИЛ-1бета, тогда как у мышей – ИЛ-1альфа. (Гусев, Скворцова, 2001).

ИЛ-1 синтезируется клетками в ответ на проникновение инфекционных агентов и повреждение тканей. Основным источником продукции ИЛ-1 являются фагоцитирующие мононуклеары различной тканевой локализации: макрофаги и моноциты периферической крови, купферовские клетки печени, клетки Лангерганса в эпидермисе, клетки микроглии нервной ткани. Активными продуцентами ИЛ-1 являются также эндотелиоциты. Кроме того, способностью секретировать данный цитокин обладают Т-лимфоциты и В-лимфоциты, фибробласты, НК-клетки, кератиноциты, нейтрофилы (Кетлинский и др., 1992; Жаров и др., 2008).

Покоящиеся макрофаги, как и другие клеточные источники цитокина, не продуцируют ИЛ-1 и не содержат его мРНК. Экспрессия гена ИЛ-1 с образованием биологически активного белка начинается только после активации клеток различными индукторами. Среди набора веществ, вызывающих экспрессию ИЛ-1, наиболее активны компоненты клеточной стенки бактерий (бактериальный липополисахарид, ЛПС) и цитокины, появляющиеся в очаге воспаления в ходе развития защитной реакции. Среди белков семейства ИЛ-1 главным эндогенным медиатором защитных реакций организма является интерлейкин-1 β . Он синтезируется и секретируется различными типами клеток в ответ на проникновение инфекционных агентов и повреждение тканей, тогда как ИЛ-1 α существует в основном в виде мембранный формы. Помимо участия в специфическом иммунном реагировании ИЛ-1 β выступает в качестве одного из главных медиаторов, ответственных за развитие неспецифических форм защиты – формирования местной воспалительной

реакции и острофазного ответа на системном уровне организма при инфекционном поражении.

Способность мононуклеаров крови людей и альвеолярных макрофагов к спонтанной и индуцированной стандартными индукторами (ЛПС) продукции IL-1 может быть повышена или снижена при различных заболеваниях. Повышенная продукция IL-1 описана при: бактериальных инфекциях, пневмокониозе, саркоидозе, туберкулезе, респираторном дистресс-синдроме, хронической обструктивной болезни легких, травмах головного мозга, инсультах. Пониженную продукцию IL-1 наблюдали у больных с респираторными вирусными инфекциями, атопиями, раком легкого (Фрейдлин, 1998).

1.2.4. Действие цитокинов на центральную нервную систему

В настоящее время получены многочисленные доказательства того, что мозг является иммунологически компетентным органом. Цитокины и их рецепторы экспрессируются в нейронах, астроцитах, микроглии и олигодендроцитах, в эпендимных клетках, выстилающих желудочки мозга и спинномозговой канал и в клетках цереброваскулярного эндотелия (Nguyen et al., 1998; McClain et al., 1991). Иммуноцитохимические исследования локализации рецепторов цитокинов в мозге, показали их достаточно широкое распространение. Экспрессия цитокинов и их рецепторов была обнаружена во многих отделах головного мозга: в коре больших полушарий, подкорковых ядрах, хориоидном сплетении, в гиппокампе, обонятельном мозге, мозжечке, гипофизе, таламусе, гипоталамусе (Wong et al., 1994; Gayle et al., 1999; Bajetto et al., 2002), и что особенно интересно, имея ввиду регуляцию дыхания, в ядрах мозгового ствола (Hansen et al., 1998; Anisman, Merali, 2002), включая ядро солитарного тракта Dantzer et al., 2000; Gordon, 2000; Maier et al., 1998).

Лабораторные исследования показали, что в нормальных физиологических условиях в клеточных элементах мозга экспрессия генов, кодирующих цитокины, наблюдается в очень небольшом количестве. Однако она многократно возрастает при инфекциях, травмах, инсультах, иммобилизационном стрессе. При экспериментальном моделировании системного воспаления у мышей с помощью интракраниального или интраперитонеального введения бактериального липополисахарида (ЛПС) введение вентральной части мозга вызывает выраженную экспрессию цитокинов.

полисахарида (LPS) обнаружен мощный синтез провоспалительных цитокинов в мозге. Наблюдается существенная индукция мРНК ИЛ-1 β , ИЛ-6, TNF- α и IFN- γ в коре, мозжечке, таламусе, полосатом теле, гиппокампе, стволе мозга и гипоталамусе (Pitossi et al., 1997).

Кроме того, на синтез церебральных цитокинов влияет уровень циркулирующих периферических цитокинов. Так, интраперитониальное введение ИЛ-1 β увеличивает матричную РНК (мРНК) интелейкина-1 β , фактора некроза α и интерлейкина-6 в ядре одиночного тракта (NTS), в гипоталамусе, гиппокампе, в соматосенсорной и инсулярной коре. Введение TNF- α также увеличивает уровень мРНК TNF- α , ИЛ-1 β и ИЛ-10 в NTS (Churchill et al., 2006). Показано, что циркулирующие воспалительные медиаторы могут влиять на нейроны NTS непосредственно через локальный синтез цитокинов (Dantzer et al., 2000; Gordon, 2000; Maier et al., 1998). Установлено, что циркулирующий TNF- α стимулирует c-fos экспрессию в ядрах, вовлекаемых в контроль автономных функций, включая ядро солитарного тракта и вентролатеральный отдел продолговатого мозга (Nadeau et al., 1999), т.е. активирует нейроны тех областей мозгового ствола, которые принимают непосредственное участие в управлении дыханием.

Несмотря на то, что цитокины являются крупными молекулами, которые в принципе не проходят через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), цитокины, циркулирующие в кровяном русле все же могут оказывать прямое действие на нервные клетки. Показано, например, что IL-1 β постоянно определяется в ЦНС после периферической иммунной активации. Этот цитокин был обнаружен также в коре больших полушарий мозга мышей после его подкожного введения (Banks, Kastin, 1997). Предполагается, что для ИЛ-1 и TNF- α существуют специфические механизмы транспорта из плазмы в цереброспинальную жидкость (Wong, Licinio, 1994; Banks et al., 1995). К тому же проникновение периферических цитокинов из крови в ЦНС возможно через циркумвентрикулярные области головного мозга лишенные ГЭБ. К ним относятся структуры, граничащие с третьим желудочком (терминалная пластинка и супрафорникальный орган), срединное возвышение, area postrema, субкомиссуральный орган, задняя доля гипофиза, шишковидная железа. Плотность капилляров в этих областях является чрезвычайно высокой, а их эндотелий отличается большой проницаемостью.

Сравнительно недавно были получены данные, показывающие, что ГЭБ практически отсутствует и в каудально-медиальной области NTS, т.е. там, где оканчиваются терминали афферентных волокон от mechanoreцепторов легких и дыхательных путей. Капилляры этой локальной области хорошо фенестрированы, что предоставляет цитокинам крови возможность прямого выхода в периваскулярное пространство и взаимодействия с нейронами NTS (Gross et al., 1990). Кроме того, установлено наличие аксоальных проекций от области area postrema и большинства каудальных циркумвентрикулярных органов к ядру одиночного тракта, что является анатомическим путем, позволяющим циркулирующим медиаторам, выделяющимся в этих лишенных ГЭБ областях, передавать свои сигналы на нейроны NTS (Aylwin et al., 1998; Chen,. Bonham, 1998; Van der Kooy, Koda, 1983). К тому же при повышении уровня циркулирующих провоспалительных цитокинов (ИЛ-6, TNF α и ИЛ-1 β) происходит увеличение проницаемости ГЭБ, что делает возможным проникновение в ЦНС не только цитокинов, но и клеток, которые их производят (макрофаги, моноциты, лимфоциты, нейтрофилы). Увеличение проницаемости гематоэнцефалического барьера для цитокинов наблюдается также в патологических условиях, что и обуславливает повышение уровня цитокинов в ткани головного мозга и в цереброспинальной жидкости при различных заболеваниях.

В основе центральных эффектов цитокинов могут также лежать механизмы, не требующие проникновения этих крупных молекул в ЦНС. Предполагается, что один из таких механизмов связан с индукцией посредников – вторичных мессенджеров, образование которых является результатом цитокин-рецепторного взаимодействия на сосудах или других барьерно связанных участках (Ericsson et al., 1995). Роль таких посредников могут выполнять оксид азота (NO) и простагландины (PG) (эйкосаноиды, производные арахидоновой кислоты). Они в большом количестве экспрессируются периваскулярными клетками и клетками церебрального эндотелия при активации имеющихся здесь цитокиновых рецепторов (Nadeau, Rivest, 1999; Wong et al., 1995). Являясь небольшими растворимыми молекулами, PG и NO легко проникают через плазмолемму и гематоэнцефалический барьер. С их помощью цитокины могут влиять на функцию даже тех нейронов, которые не имеют цитокиновых рецепторов. Так, группой авторов было показано, что систем-

ное введение ИЛ-1 β индуцирует экспрессию средне-раннего гена c-fos, в ряде структур головного мозга, в том числе в ядре одиночного тракта, в латеральных парабрахиальных ядрах, в вентролатеральном отделе продолговатого мозга (Ericsson, et al., 1994). При этом анализ распределения мРНК, кодирующей белок рецептора ИЛ-1 первого типа (ИЛ-1R1) проведенный этими же исследователями не обнаружил мРНК ИЛ -1R1 среди тех нейронов, которые отвечали на внутривенное введение ИЛ-1 β индукцией транскрипционного фактора fos (Ericsson, et al., 1995). Другими словами нейроны, отвечающие на цитокиновый сигнал, не имели соответствующих рецепторов. Более того, в одной из работ было показано, что прямое действие ИЛ-1 β на структуры мозгового ствола *in vitro* не изменяет респираторно-зависимую нейрональную активность этого отдела мозга (Olsson et al., 2003). В тоже время наличие респираторных эффектов у ИЛ-1 β при его центральном или системном введении в настоящее время не подлежит сомнению. (Graff, Gozal, 1999; Hofstetter, Herlenius, 2005; Hofstetter et al., 2007; Александрова и др., 2009; Aleksandrova, Danilova, 2010). Эти на первый взгляд противоречивые данные могут быть объяснены тем, что участие цитокинов в центральной регуляции висцеральных функций и, в частности, функции дыхания, опосредовано действием вторичных мессенджеров, которые экспрессируются эндотелиальными, периваскулярными и эпендимными клетками, при их взаимодействии с цитокинами.

Получены конкретные данные, указывающие на то, что респираторные эффекты IL-1 β опосредованы эйкосаноид-зависимыми механизмами (Graff, Gozal, 1999; Olsson et al., 2003; Hofstetter et al., 2007). К тому же установлено, что при введении крысам в правый латеральный желудочек 2 микрограммов PGE₂, через 30 мин после введения обнаруживается сильный положительный сигнал мРНК кодирующей ранний ген c-fos в ядре одиночного тракта, в моторном ядре vagusa, в дорсальном отделе амбигуального ядра (Lacroix, 1996). Таким образом, центральная инъекция PGE₂ вызывает специфическую и селективную экспрессию c-fos в тех структурах мозга, которые участвуют в регуляции дыхания.

Кроме простагландинов в качестве медиатора действия цитокинов, который может играть сходную роль в регулировании процессов в ЦНС, рассматривается и оксид азота (Graff, Gozal, 1999). Как известно, идентифицированы несколько изоформ NO-синтазы (NOS) – фермента, который катализирует трансформацию L-

аргинина в L- цитруллин и газообразные медиаторы NO. Нейрональная (NOSI) и эндотелиальная (NOSIII) NO-синтазы экспрессируются конститутивно, тогда как экспрессия NOSII, найденной во многих типах клеток (макрофаги, гепатоциты, гладкомышечные клетки, клетки глии) обнаруживается только после индукции цитокинами или эндотоксинами.

Следует добавить, что эффекты цитокинов могут быть связаны и с их способностью вызывать выделение нейропептидов (вещество P, кальцитонин ген-родственный пептид и др.) из терминалей капсацин чувствительных нейронов (Bileviciute et al., 1994; Shadiack et al., 1994), а также взаимодействовать с медиаторными системами. Так, установлено, что провоспалительные цитокины (ИЛ-1 β и TNF- α) способны модулировать активность возбуждающих глютаматергических механизмов в ЦНС (Chao et al., 1995; Rothwell, 1999). Кроме того, системные провоспалительные цитокины являются мощными активаторами гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы. Их эффект проявляется через увеличение синтеза и секреции кортикотропинрелизинг фактора нейросекреторными нейронами.

И, наконец, в соответствии с некоторыми экспериментальными данными, информация от системных цитокинов в мозг может передаваться вагальными афферентами (Hansen et al., 1998). Обнаружено, что IL-1 β индуцирует доза зависимое и длительное увеличение афферентной активности вагуса (Nijjima, 1996). Предполагается, что локально продуцируемые цитокины взаимодействуют с рецепторами, которые либо находятся непосредственно на вагальных афферентах, либо функционально связаны с ними. Сигналы, поступающие в мозг от этих рецепторов, индуцируют мозговую продукцию цитокинов. Эти данные, кстати, позволяют предположить участие цитокинов в механорецепторных механизмах регуляции дыхания, в которых, как известно, основное значение отводится изменению афферентной импульсации от механорецепторов легких, поступающей в головной мозг по ветвям блуждающего нерва (рефлексы Геринга-Брейера).

1.2.5. Влияние провоспалительных цитокинов на функцию дыхания

Первые работы, в которых была показана возможность участия провоспалительных цитокинов в регуляции дыхания, появились в конце XX века. Было уста-

новлено, что экзогенное введение ИЛ-1 β , а также действие эндотоксина, способствующего эндогенному высвобождению провоспалительных цитокинов, вызывает ответы со стороны респираторной системы, которые выражаются в увеличение частоты дыхания, дыхательного объема, скорости инспираторного потока, минутной вентиляции легких, усилении моторного выхода дыхательной системы (Graff, Gozel, 1999; Preas et al., 2001).

Позднее появились новые данные, позволяющие предположить участие цитокинов в механизмах регуляции резистивного дыхания. Было обнаружено, что при хронической обструктивной болезни легких, сопровождающейся увеличением сопротивления дыханию, наблюдается подъем уровня цитокинов в плазме крови, не связанный с поступлением в кровь цитокинов из очагов воспаления локализующихся в тех или иных отделах дыхательной системы (Verwooy et al., 2002; Godoy et al., 2003; Koechlin et al., 2004). Затем достоверное увеличение в плазме ИЛ-1 β и ИЛ-6, TNF- α было обнаружено и у здоровых испытуемых при дыхании с добавочным инспираторным сопротивлением (Vassilakopoulos et al., 2002). Эксперименты выполненные на животных показали, что наиболее вероятным источником цитокинов при резистивном дыхании являются дыхательные мышцы. Так у наркотизированных животных, которые в течение нескольких часов дышали с добавочной инспираторной резистивной нагрузкой, было обнаружено выраженное усиление экспрессии цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ -6, TNF- α , ИЛ -4) в диафрагме, основной инспираторной мышце (Vassilakopoulos et al., 2004). Авторы сделали вывод, что внутри диафрагмальная продукция цитокинов была специфическим ответом на увеличение активации диафрагмы резистивной нагрузкой. Увеличение уровня провоспалительных цитокинов было обнаружено также в межреберных мышцах больных ХОБЛ (Casadevall et al., 2007). При этом наблюдались повреждения сарколеммы и дисфункция дыхательных мышц, которая коррелировала с нарушением легочной функции и с экспрессией TNF- α в межреберных мышцах. Вероятно, цитокины, образующиеся в дыхательных мышцах, могут действовать как локальные регуляторы мышечной функции, вызывая повреждение мышечных волокон и способствуя тем самым развитию дисфункции дыхательных мышц.

Повышение уровня ИЛ-6 и TNF- α в плазме крови наблюдается и у пациентов с синдромом сонного апноэ во время сна сразу после первого эпизода обструк-

тивного апноэ (Vgontzas et al., 2000; Entrain et al., 1996; Vgontzas et al., 2003). Предполагается, что в данном случае повышение уровня циркулирующих цитокинов вызвано усиленными сокращениями дыхательных мышц и гипоксемией в периоды окклюзии верхних дыхательных путей. Установлено, что эффекты усиленных мышечных сокращений и гипоксемии являются синергичными и вызывают увеличение уровня ИЛ-6 в плазме крови (Klausen et al., 1997). Терапия положительным давлением, которая устраняет эпизоды апноэ и соответствующие им усиление диафрагмальных сокращений и гипоксемию выражается в достоверном снижении уровня ИЛ-6 в плазме (Yokoe et al., 2003).

Что служит стимулом для продукции цитокинов при дыхании с добавочным сопротивлением остается пока неизвестным. Наиболее вероятным претендентом на эту роль является оксидативный стресс. Установлено, что атиоксиданты снижают цитокиновый ответ на резистивное дыхание (Vassilakopoulos et al., 2002). Таким образом, все вышесказанное позволяет предполагать, что развитие утомления дыхательных мышц при дыхании с добавочным сопротивлением, выражющееся в ухудшении их сократительной способности, может быть опосредовано увеличением продукции цитокинов, вызванной развитием оксидативного стресса вследствие усиленных сокращений дыхательных мышц и гипоксии, сопровождающих действие инспираторной резистивной нагрузки.

К настоящему времени получены пока еще немногочисленные экспериментальные данные, которые позволяют предположить, что повышение уровня цитокинов в организме может оказывать существенное влияние не только на функциональное состояние дыхательных мышц, но и на центральные механизмы регуляции дыхания. Так, в экспериментах на крысах было показано монофазное дозозависимое увеличение вентиляции легких при внутривенном введении ИЛ-1 β (Graff, Gozal, 1999). Установлено, что системное введение здоровым испытуемым эндотоксина, способствующего высвобождению провоспалительных цитокинов, вызывает увеличение частоты дыхания, скорости инспираторного потока, минутной вентиляции легких (Preas et al., 2001). Установлено, что конкурентное устранение TNF- α (посредством удаления гена для TNF- α) у мышей имеющих сниженный вентиляторный ответ на гиперкапнию значительно улучшает этот показатель, указывая на то, что эндогенно продуцируемый TNF- α угнетает реакцию на гипер-

капнию (Gosselin et al., 2003). Это дает основания предполагать, что цитокины могут участвовать в хеморецепторном контроле дыхания. Такому предположению способствует и ряд других работ, в которых показана возможность участия провоспалительных цитокинов в гипоксических реакциях. Например, установлено, что крысы, которым интраперитониально вводится ИЛ-1 β , имеют меньшую вентиляторную реакцию на аноксию (Hofstetter, Herlenius, 2005). Кроме того, исследования последних лет показали, что экзогенное введение IL-1 β и TNF- α влияет на гломусные клетки каротидных телец, которые экспрессируют рецепторы к основным провоспалительным цитокинам (Wang et al., 2006; Zhang et al., 2007; Fernandez et al., 2011). При этом при спокойном дыхании наблюдается увеличение частоты разрядов синусного нерва иннервирующего каротидное тело (Shu et al., 2007; Fernandez et al., 2011) при одновременном уменьшении в изменении активности синусного нерва в ответ на острые возбуждающие (гипоксия, никотин) или тормозные (гипероксия) стимулы (Fernandez et al., 2008). LPS введенный интраперитониально увеличивает базовую респираторную частоту, но уменьшает вентиляторный ответ на 10 секундную экспозицию 100% азота и 100% кислорода (Fernandez et al., 2008). Предполагается, что одним из механизмов действия LPS может быть дезорганизация кластеров клеток 1 типа (Fernandez et al., 2008; Zapata et al., 2011). Обнаружено, что разовая доза LPS данная крысятам на 2-й постнатальный день вызывает разрушение клеточной архитектуры внутри каротидного тела. Через 48 часов в ультраструктуре каротидных тел отмечаются расширенные кровеносные сосуды, нерегулярная хроматиновая конденсация, разбухшие митохондрии и комплекс гольджи в клетках 1 типа. Клеточные повреждения присутствуют в течение 7 дней после экспозиции LPS (Gauda et al., 2013).

* * *

Таким образом, анализ литературных данных убеждает в перспективности проведения исследований раскрывающих механизмы влияния цитокинов на функцию внешнего дыхания с целью выяснения роли иммунных механизмов в хеморецепторной регуляции дыхания, возможного участия провоспалительных цитокинов в развитии дыхательной недостаточности при респираторной патологии, выяснения возможной связи между инфекцией и нарушениями дыхания.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Объект исследования

Эксперименты проводились на 88 наркотизированных и трахеостомированных лабораторных крысах самцах линии Wistar, массой 250–300 г, в возрасте 2-3 месяца. При выборе объекта исследования учитывалось, что крысы являются классическими экспериментальными моделями при проведении физиологических исследований (Ноздрачев, Поляков, 2001). Кроме того, анатомическое строение и функциональные особенности дыхательной и сердечно-сосудистой системы этих млекопитающих, в целом, не имеют принципиальных отличий с таковыми у человека. К тому же крыса обладает совершенной регуляцией дыхания, хорошо выраженной реакцией на ингаляцию гипоксических и гиперкапнических смесей и часто используется в качестве объекта по изучению функции внешнего дыхания (Конза, 1972).

Перед проведением хирургических манипуляций животных наркотизировали внутрибрюшинным введением уретана в расчете 1400 мг/кг массы. При этом осуществляли визуальный контроль степени наркоза по появлению зрачкового рефлекса или тремора конечностей, в случае необходимости производили дополнительное введение раствора уретана. При достижении необходимого уровня наркоза животное фиксировали в положении лежа на спине в специальном станке с электрическим обогревателем, что давало возможность поддерживать температуру тела на физиологическом уровне. Контроль ректальной температуры животных осуществляли с помощью электротермометра ТПЕМ-1, датчик электрического термометра вводили в прямую кишку на 3–4 см. Ректальная температура животных на протяжении эксперимента колебалась в пределах 36,0 – 36,8°C, что соответствует физиологической норме для данного вида животных.

Исследование проводилось под общей анестезией с соблюдением основных норм и правил биомедицинской этики (European Community Council Directives 86/609/EEC).

2.2. 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 определялись по стереотаксическому атласу мозга крысы (Paxinos, Watson, 1982) и составляли 0,8 мм каудальнее уровня bregma, 1,5 мм латерально от средней линии и 3,5-4,0 мм от поверхности черепа. На рисунке 2.1 показана схема фронтального среза, на уровне которого производилось введение канюли.

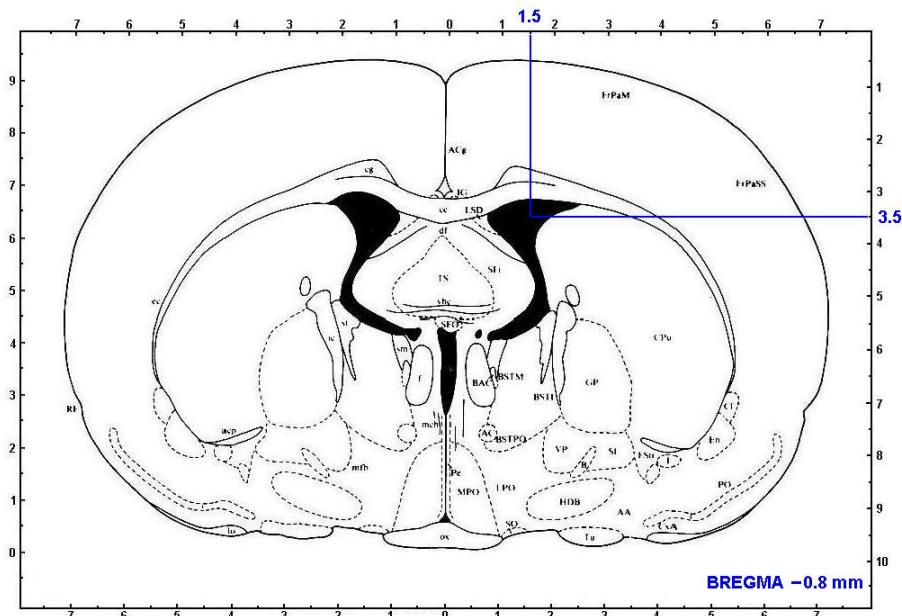


Рис. 2.1. Схема фронтального среза мозга крысы с нанесенными координатами правого бокового желудочка рассчитанными по стереотаксическому атласу мозга крысы (Paxinos, Watson, 1982).

С помощью бормашины рассверливалось трепанационное отверстие, в которое вводилась направляющая канюля, укрепленная на стереотаксической головке. В ходе эксперимента в канюль погружался микроинъектор. Введение микроинъектора в желудочки мозга сопровождалось выделением капли ликвора на поверхность черепа. Микроинъектор соединялся со шприцом Гамильтона, с помощью которого в боковой желудочек мозга вводилось 10 мкл раствора, содержащего 500 нг ИЛ-1 β , со скоростью 1мкл/мин (рис. 2.2). Такая скорость и объем введения вещества не нарушает естественную скорость тока спинномозговой жидкости (0,3-0,5 мл/мин, т.е. 300-500 мкл/мин) и не повышает давление в полостях желудочков.

В конце эксперимента с целью контроля через микроинъектор вводился раствор бриллиантового зеленого. Головной мозг извлекался из черепной коробки и разрезался в направлении фронтальной плоскости. На срезе визуализировалась степень прокраски системы мозговых желудочков.



Рис. 2.2. Введение вещества в боковой желудочек мозга с помощью шприца Гамильтона.

Для повышения системного уровня циркулирующего цитокина 500 нг ИЛ-1 β разведенного в 0,1 мл раствора вводилось в кровеносную систему через бедренную вену.

На внутренней поверхности бедра сбивалась шерсть, делался разрез на коже и раздвигались мышцы. Бедренная вена бралась на лигатуры и перевязывалась ближе к стопе. В вену вводился катетер, с присоединенным к нему шприцем, заполненным антикоагулянтом гепарином из расчета 1000 Ед/кг массы тела и закреплялся в ней. Затем к катетеру присоединялся шприц, с помощью которого в кровеносное русло вводилось 0,1 мл раствора, содержащего 500 нг ИЛ-1 β . В момент переключения шприцев визуально контролировали отсутствие пузырьков воздуха.

2.3. Пневмотахографический метод регистрации объемно-временных параметров дыхания

Регистрация физиологических параметров производилась с помощью специально сконструированной экспериментальной физиологической установки, в состав которой входили следующие компоненты:

1. столик, позволяющий фиксировать животное в стереотаксическом аппарате.
2. устройство сбора биологических данных Biograf (ГУАП, Санкт-Петербург);
3. пневмометрическая трубка (MLT1L, AD Instruments, Австралия);
4. пневмотахограф (ГУАП, Санкт-Петербург) совместимый с устройством сбора данных Biograf;
5. устройство для подачи дыхательных смесей;
6. компьютер;
7. квадрупольный масс-спектрометр МС7-100 (ИАП РАН, Санкт-Петербург);
8. дополнительное оборудование.

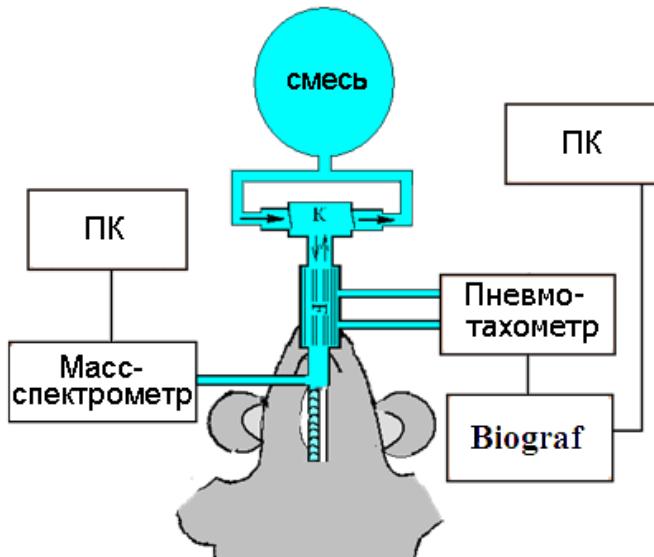


Рис. 2.3. Блок-схема экспериментальной установки. ПК – персональный компьютер, К – клапанная коробка, F – пневмометрическая трубка (MLT1L, AD Instruments, Австралия).

Регистрация объемно-временных параметров дыхания проводилась методом пневмотахографии, основанным на регистрации изменений объемной скорости воздушного потока в течение дыхательного цикла - пневмотахограммы.

При регистрации пневмотахограммы наиболее важной частью регистрирующей аппаратуры, является пневмометрическая трубка. Она должна обладать малым аэродинамическим сопротивлением и подключаться к дыхательным путям экспериментального животного. При прохождении воздуха через трубку между ее началом и концом создается небольшая разность давлений, которую можно зарегистрировать при помощи манометрических датчиков. Эта разность давлений, при условии ламинарности газового потока, прямо пропорциональна объемной скорости воздушного потока.

В наших экспериментах объёмная скорость потока регистрировалась при помощи пневмометрической трубки, предназначеннной для проведения измерений на мелких лабораторных животных (MLT1L, AD Instruments, Австралия), в конструкцию которой введены специальные элементы, поддерживающие ламинарность воздушного потока. Пневмометрическая трубка подсоединялась к трахеостомической канюле, пневмотахографу и миниатюрной клапанной коробке, имеющей малое сопротивление и небольшое мертвое пространство. Использование клапанной коробки, содержащей клапан вдоха и клапан выдоха, позволяло отделять инспираторный и экспираторный потоки друг от друга (рис. 2.3).

Для того чтобы обеспечить дыхание через трахеостомическую канюлю, по средней линии шеи от подбородочной области до грудины рассекали кожу и тупо расслаивали мышцы, прикрывающие трахею. В Т-образный разрез трахеи вставляли дыхательную канюлю, которую фиксировали с помощью лигатуры.

Перед началом экспериментального исследования была произведена калибровка пневмотахографической трубки при помощи расходомера системы Рота, подключенного к газовому баллону и позволяющего точно измерить объемную скорость воздушного потока (рис. 2.4). Через трубку Рота сжатый воздух из баллона с разными объемными скоростями подавался на калибруемую трубку. Калибровочная кривая показала прямо пропорциональную зависимость между величиной напряжения на выходе канала регистрации и значением объемной скорости воздушного потока.

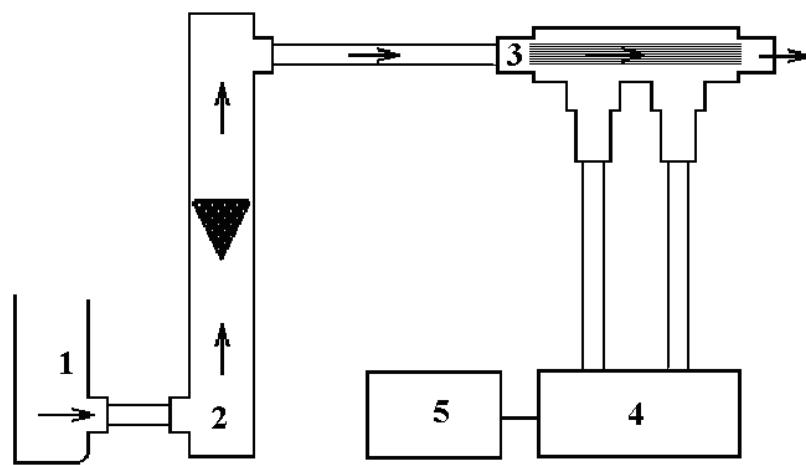


Рис. 2.4. Калибровка пневтометрической трубы.

1 – баллон со сжатым газом, 2 – трубка Рота, 3 – пневматахометрическая трубка, 4 – пневмотахограф, 5 – регистратор. Стрелками указано направление потока газа.

Регистрацию скорости инспираторного потока, калибровку и обработку экспериментальных данных производили с использованием аппаратно-программного комплекса “Biograf” (ГУАП, Санкт-Петербург), совмещенного с персональным компьютером IBM PC. По измерениям, сделанным непосредственно на кривой пневмотахограммы, определялись максимальная скорость вдоха и выдоха, продолжительность фаз дыхательного цикла, частота дыхания (рис. 2.5). Использование электронной интеграции пневмотахографической кривой позволяло автоматически получить кривую дыхательных объемов - спирограмму и вычислить дыхательный объем. Минутный объем дыхания (МОД) рассчитывали как произведение дыхательного объема на частоту дыхания. Интерфейс программы регистрации объемно-временных параметров дыхания приведен на (рис.2.5).

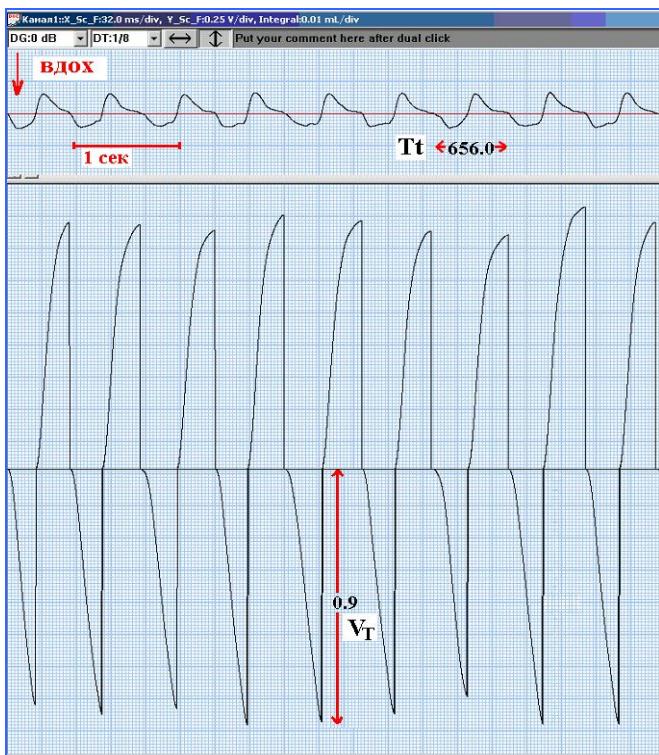


Рис. 2.5. Интерфейс программы Codas. Tt – продолжительность дыхательного цикла в мсек, VT – величина дыхательного объема в мл.

2.4. Анализ состава альвеолярного газа методом масс-спектрометрии

Непосредственную величину хеморецепторного стимула принято определять по значениям напряжения O_2 и CO_2 в артериальной крови. Однако получение проб крови может быть только дискретным. Поэтому для длительного мониторирования динамики газового состава крови чаще всего прибегают к регистрации парциальных давлений O_2 и CO_2 в альвеолярном газе, точнее - в конечной порции выдыхаемого воздуха. Известно, что диффузационная способность легких столь велика, что между парциальным давлением газов в альвеолярном воздухе и в оттекающей от легочных капилляров артериальной крови нет существенных различий. Так, для кислорода альвеолярно-артериальный градиент в покое составляет не более 6-9 мм рт. ст., и еще меньше для углекислого газа. Считается, что градиента для CO_2 в силу большого коэффициента диффузии практически не существует (Аганезова, 1980; Конза, Чуйкин, 1983).

Для непрерывной регистрации содержания CO_2 и O_2 в альвеолярном газе в данном исследовании использовался малоинерционный квадрупольный масс-спектрометр МС7-100 (ИАП РАН, Санкт-Петербург). Этот прибор обладает малой

постоянной времени (не более 0,2 с), что позволяет исследовать динамические изменения газового состава в течение одного дыхательного цикла. Погрешность измерений содержания O_2 и CO_2 составляет всего $\pm 0,2\%$.

Система забора пробы газа включает в себя капилляр и вакуумный насос ВН-0,03. Капилляр представляет собой тонкостенную трубку из нержавеющей стали длиной 4м и внутренним диаметром около 0,3мм. Для того чтобы исключить возможность конденсации водяных паров на внутренних стенках капилляра, он прогревается до температуры около 40°C протекающим по нему электрическим током. Снаружи капилляр защищен теплоизоляционной трубкой, которая одновременно является электроизолатором. Из дыхательной трубы через капилляр забирается небольшая часть исследуемой газовой смеси (около 5 мл/мин). Таким образом, расход газа не превышает 2,5 – 5 % от минутного объема дыхания крысы. В ходе эксперимента капилляр масс-спектрометра вставляли в патрубок трахеостомической канюли и фиксировали концентрацию O_2 и CO_2 на дисплее 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.

2.5. Оценка вентиляторной чувствительности к гиперкапнии и гипоксии методом возвратного дыхания

В экспериментальной практике для количественной оценки реакции дыхательной системы на гиперкапнический и гипоксический стимулы используется регистрация приростов минутного объема дыхания и его составляющих в ответ на дозированное увеличение напряжения углекислого газа (PCO_2) или снижение напряжения кислорода (PO_2) в артериальной крови. В наших экспериментах с этой целью использовался классический метод возвратного дыхания обеспечивающий прогрессивные увеличение хеморецепторного стимула (O_2 или CO_2) в дыхательной среде (Rebuck, Campbell, 1974; Rebuck, 1976). Принцип метода основан на дыхании в замкнутом цикле, при котором вдох и выдох производятся в мешок и из мешка, заполненного газовой смесью определенного состава.

Тест с возвратным дыханием продолжался в течение 4 минут, в конце каждой минуты регистрировали парциальное давление CO_2 или O_2 (в зависимости от задачи исследования) в конечной порции выдыхаемого газа и показатели внешнего дыхания.

2.5.1. Оценка вентиляторной реакции на гипоксический стимул

Вентиляторную чувствительность на гипоксический стимул исследовали методом возвратного дыхания изокапнической гипоксической газовой смесью (5% CO_2 , 15% O_2 в азоте). Содержание кислорода в мешке убывало по мере его потребления животным, обеспечивая плавное нарастание гипоксического стимула. Выделяемый во время выдоха CO_2 удалялся химическим поглотителем (рис. 2.6).

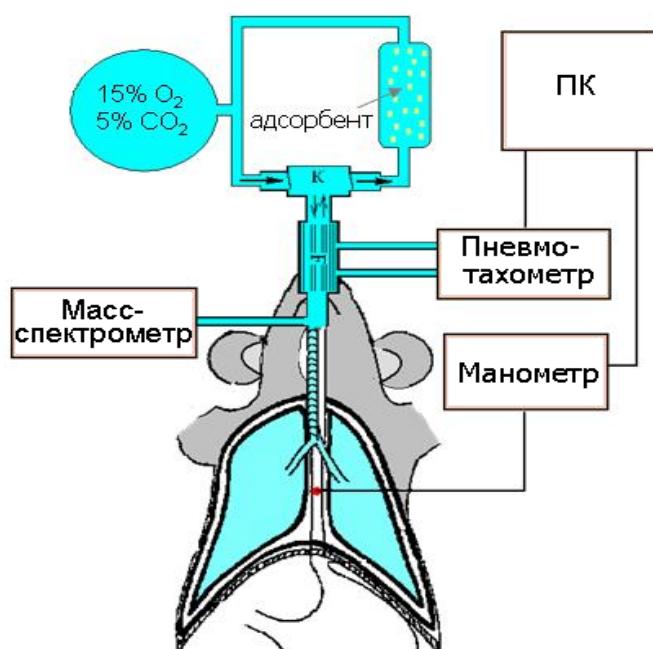


Рис. 2.6. Схема системы возвратного дыхания при гипоксии. ПК – персональный компьютер, К – клапанная коробка, F – пневмометрическая трубка (MLT1L, AD Instruments, Австралия).

Удаление избытка CO_2 позволяло поддерживать парциальное давление CO_2 во время проведения теста на постоянном уровне, не превышающем $46,2 \pm 0,3$ мм рт.ст., что исключало взаимодействие гипоксического и гиперкапнического стимулов усиливающее вентиляторную реакцию. Для количественной оценки вентиляторной реакции на гипоксический стимул использовали параметр S (slope,

мл/мин/мм.рт.ст.), который рассчитывали как отношение прироста минутного объема дыхания и его составляющих к снижению парциального давления кислорода в конечной порции выдыхаемого воздуха ($P_{ET}CO_2$) на 1 мм.

Оценку вентиляторной реакции во время проведения теста с возвратным дыханием проводили в диапазоне снижения парциального давления кислорода в альвеолярном газе от $80,0 \pm 3,0$ до $40,0 \pm 2,0$ мм рт.ст., т.к. в этом диапазоне зависимость вентиляторных параметров от величины гипоксического стимула является практически линейной. Линейность данной зависимости подтверждалась в каждом эксперименте при построении графика демонстрирующего увеличение регистрируемого вентиляторного показателя при снижении $P_{ET}CO_2$ (Рис.2.7). Программными средствами для каждого графика подбиралась соответствующая линия тренда и вычислялась величина достоверности аппроксимации (R^2), которая для всех зарегистрированных в наших исследованиях кривых была больше 0,8 – 0,9, т.е. приближалась к единице, что свидетельствует о линейной зависимости между регистрируемыми параметрами.

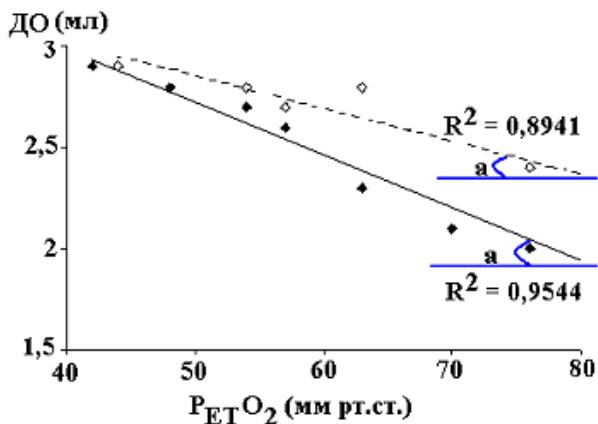


Рис. 2.7. Оценка вентиляторной реакции при гипоксической стимуляции в диапазоне снижения парциального давления кислорода в альвеолярном газе от 80 до 40 мм рт.ст. Объяснения в тексте.

2.5.2. Оценка вентиляторной реакции на гиперкапнический стимул

Для исследования реакций дыхательной системы на гиперкапнический стимул применялось возвратное дыхание гиперкапнически-гипероксической газовой смесью. (Rebuck, Campbell, 1974; Rebuck, 1976). Для возвратного дыхания использовалась газовая смесь содержащая 7% CO_2 и 60% O_2 в азоте. Таким образом, про-

ведение теста начиналось при содержании двуокиси углерода в мешке, близком к смешанной венозной крови. При дыхании в замкнутом цикле PCO_2 в мешке, легких и крови быстро (в течение нескольких дыхательных циклов) приходит в равновесие, и дальнейшее нарастание гиперкапнического стимула зависит только от продукции CO_2 тканями. В результате по мере возвратного дыхания происходит постепенное нарастание интенсивности гиперкапнического стимула. Для устранения гипоксической стимуляции артериальных хеморецепторов начальная дыхательная смесь содержала избыток кислорода, таким образом, в результате проведения пробы с возвратным дыханием, мы исследовали реакцию дыхания только на гиперкапнический стимул, опосредованный, главным образом, медуллярными хеморецепторами (рис.2.8).

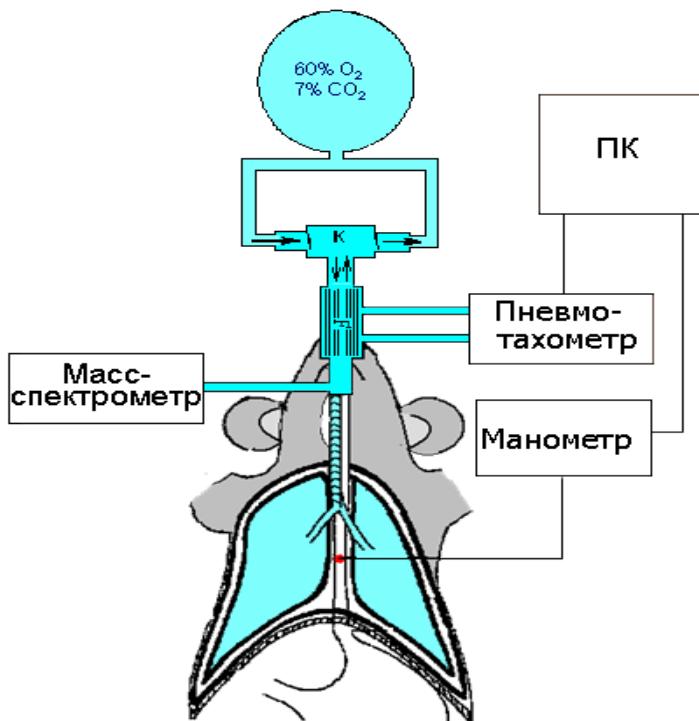


Рис. 2.8. Схема системы возвратного дыхания при гиперкапнии. ПК – персональный компьютер, К – клапанная коробка, F – пневмометрическая трубка (MLT1L, AD Instruments, Австралия).

Вентиляторные реакции на возрастающий гиперкапнический стимул анализировались в диапазоне роста CO_2 в конечной порции выдыхаемого газа от 50 до 75 мм рт. ст., учитывая, что в данном диапазоне прирост легочной вентиляции от степени нарастания PCO_2 имеет линейную зависимость (Lopata et al., 1978; Weissman et al., 1982). Линейность подтверждается и нашими данными). Также как и при исследовании вентиляторной реакции на гипоксию, при оценке вентиляторной

реакции на гиперкапнию рассчитывалась достоверность аппроксимации (R^2) линий тренда в каждом эксперименте, которая приближалась к единице как до, так и после введения ИЛ-1 β .

2.5.3. Обработка экспериментальных данных

При проведении исследований производилась регистрация $P_{ET}CO_2$ и $P_{ET}O_2$, скорости инспираторного потока, дыхательного объема (ДО) и частоты дыхания (ЧДД), рассчитывался минутный объем дыхания (МОД). Измерения производили до введения ИЛ-1 β в организм и после его введения. Экспериментальный материал сводили в таблицы и обрабатывали статистически. Высчитывались средние значения величин, стандартные ошибки. По полученным значениям строились графики, диаграммы.

Вентиляторный ответ дыхательной системы при проведении гипоксического или гиперкапнического теста оценивался двумя способами. Во-первых, по наклону аппроксимированных кривых роста легочной вентиляции и ее составляющих при увеличении $P_{ET}CO_2$ или снижении $P_{ET}O_2$ в альвеолярном воздухе. После построения графиков вычислялся угловой коэффициент аппроксимированных прямых (a), который численно равен тангенсу угла между положительным направлением оси абсцисс и данной прямой (Рис.2.7). Вычислялась средняя величина коэффициента «a» и ошибка средней для всех зависимостей, зарегистрированных до введения ИЛ-1 β , а также после его введения. При помощи статистических критериев оценивалась достоверность различий в величине «a» до и через каждые 20 минут после введения ИЛ-1 β .

Во-вторых, величина вентиляторного ответа на гипоксию и гиперкапнию производилась по конкретному приросту МОД и его составляющих при увеличении $P_{ET}CO_2$ или снижении $P_{ET}O_2$ на 1 мм рт. ст.

Достоверность результатов определялась посредством однофакторного дисперсионного анализа и непараметрического критерия Уайта. Вероятность различий при $P<0.01$ и $P<0.05$ считалась достоверной.

ГЛАВА 3. ВЛИЯНИЕ ИНТЕРЛЕЙКИНА-1 β НА РЕСПИРАТОРНЫЕ ПАРАМЕТРЫ ПРИ СПОКОЙНОМ ДЫХАНИИ ВОЗДУХОМ

Прежде чем провести исследование влияния интерлейкина-1 β (ИЛ-1 β) на вентиляторную чувствительность к изменению газового состава крови и хеморецепторные механизмы регуляции дыхания, необходимо было выяснить, какое влияние оказывает экзогенное повышение в организме уровня данного провоспалительного цитокина на фоновые параметры внешнего дыхания: частоту дыхания, дыхательный объем, минутную вентиляцию легких, среднюю скорость инспираторного потока. С этой целью было проведено четыре серии экспериментов. В первых двух сериях ИЛ-1 β и физиологический раствор, который использовался в качестве плацебо (контрольная серия), вводились непосредственно в ликвор через боковые желудочки мозга, т. е. минуя гематоэнцефалический барьер. В двух последующих сериях экспериментов ИЛ-1 β и физиологический раствор вводились внутривенно в систему кровообращения.

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

Интравентрикулярное введение ИЛ-1 β в цереброспинальную жидкость вызывало достоверное увеличение минутного объема дыхания, дыхательного объема, средней скорости инспираторного потока. Была также обнаружена тенденция к увеличению частоты дыхания под действием интерлейкина. 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 . Через 40 минут после интравентрикулярного введения интерлейкина частота дыхания превышала фоновые значения в среднем на 7%, однако это увеличение не было статистически значимым. Величина дыхательного объема достоверно возрасала на 13% через 40 минут действия ИЛ-1 β и на 17% через 60 минут. Вследствие роста глубины дыхания и небольшого увеличения частоты происходило достоверное увеличение минутной вентиляции легких в среднем на 40%. Средняя скорость инспираторного потока, отражающая величину центральной инспиратор-

ной активности, возрастила на 20%. Интравентрикулярное введение физиологического раствора не оказывало влияние на параметры внешнего дыхания (Табл. 3.1).

Таблица 3.1

Объемно-временные параметры дыхания до и после интравентрикулярного введения ИЛ-1 β и физиологического раствора.

Параметр	Интерлейкин-1 β (n = 8)			Плацебо (физ.р-р) (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
V инс (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.

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

Введение беталейкина в бедренную вену приводило к повышению уровня ИЛ-1 β в циркуляторном русле, что вызывало, в принципе, такие же изменения в величине респираторных параметров, как и повышение его церебрального уровня (Табл. 3.2). Увеличение дыхательного объема начиналось через 20 минут после введения ИЛ-1 β , становясь статистически значимым через 35-40 минут и превышая фоновый уровень на 36%, а через 60 минут – уже на 40%. При этом частота дыхания не возрастила. Достоверное увеличение минутного объема дыхания началось через 25 минут после начала введения ИЛ-1 β , и через 40 минут превышало фоновый уровень в среднем на 23%. Средняя скорость инспираторного потока в этот период увеличивалась на 20%. Введение в бедренную вену физиологического раствора не вызывало увеличения минутного объема дыхания, т. к. не оказывало влияния ни на частоту, ни на глубину дыхания.

Таким образом, полученные в первой части исследования экспериментальные данные указывают на то, что увеличение уровня ИЛ-1 β как в плазме крови, так и в цереброспинальной жидкости вызывает изменение паттерна дыхания. Наблюдается достоверное увеличение средней скорости инспираторного потока,

дыхательного объема, и минутной вентиляции легких. При центральном введении ИЛ-1 β отмечается тенденция к увеличению частоты дыхания. Наличие изменений параметров дыхания при внутривенном, системном введении указывает на то, что гематоэнцефалический барьер не препятствует проявлению респираторного эффекта интерлейкина-1 β .

Таблица 3.2

Величина объемно-временных параметров дыхания до и после внутривенного введения ИЛ -1 β и физиологического раствора.

Параметр	Интерлейкин-1 β (n = 8)			Плацебо (физ.р-р) (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 ± 4,02	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
V инс (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.

3.3. Обсуждение результатов

Результаты первой части проведенного исследования указывают на то, что ИЛ-1 β , основной провоспалительный цитокин, способен увеличивать вентиляцию легких действуя прежде всего на дыхательный объем. Изменения в частоте дыхания были менее выражеными. В некоторых случаях наблюдалась тенденция к учащению дыхания, но выявить достоверные изменения этого параметра не удалось. Соотнесение этого факта с функциональными особенностями нейронов разных отделов дыхательного центра, дает возможность утверждать, что действие ИЛ-1 β при его церебральном введении реализовывалось в основном через нейроны дорсальной респираторной группы.

Как известно нейроны дыхательного центра локализованы в двух основных респираторных областях, получивших название дорсальной респираторной группы (ДРГ), находящейся в вентролатеральном отделе ядра солитарного тракта (NTS), и вентральной респираторной группы (ВРГ), локализованной в вентролатеральном

отделе продолговатого мозга (Сафонов, Чумаченко, Ефимов, 1980; Сергиевский и др., 1993; Инюшкин, Меркулова, 1998; Bianchi et al., 1995). Ростральнее ВРГ расположены комплекс пре-Бётцингера и комплекс Бётцингера (Kalia et al., 1979; Ramirez, Richter, 1996). Все нейронные пулы дыхательного центра взаимосвязаны. Они участвуют в автоматической регуляции дыхания и в формировании компенсаторных реакций дыхательной системы в ответ на гомеостатические изменения и действие факторов окружающей среды. Вместе с тем существуют некоторые функциональные особенности присущие той или иной группе нейронов. Так нейроны ДРГ участвуют, прежде всего, в формировании центральной инспираторной активности и в регуляции глубины дыхания, т.е. дыхательного объема, но практически не принимают участие в регуляции частоты дыхания (Bianchi et al., 1995). В экспериментах *in vitro* на переживающих срезах ствола мозга крыс было показано почти полное отсутствие ритмогенерирующих нейронов в данной области дыхательного центра (Инюшкин, 2001). В противоположность этому факту, ВРГ в большей мере связана с регуляцией частоты дыхания. В особенности это касается комплекса пре-Бётцингера, который является ритмогенерирующим отделом дыхательного центра (Ramirez, Richter, 1996). Все эти данные позволяют предполагать, что в центральные механизмы обнаруженного нами респираторного эффекта ИЛ-1 β включены нейроны ДРГ, активация которых усиливает центральную инспираторную активность и увеличивает ДО.

Такой же механизм может отвечать и за изменение паттерна дыхания при периферическом, системном введении интерлейкина. Дело в том, что несмотря на то, что цитокины являются крупными молекулами, которые в принципе не проходят через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), цитокины, циркулирующие в кровяном русле все же могут оказывать свое действие на нервные клетки. Во-первых, предполагается, что для основных провоспалительных цитокинов IL-1 β и TNF- α существуют специфические механизмы транспорта из плазмы в цереброспинальную жидкость (Wong, Licinio, 1994; Banks et al., 1995). Во-вторых, проникновение периферических цитокинов из крови в ЦНС возможно через циркумвентрикулярные области головного мозга лишенные ГЭБ. К ним относятся структуры, граничащие с третьим желудочком (терминальная пластинка и супрафорникальный орган), срединное возвышение, area postrema, субкомиссуральный орган, задняя доля

гипофиза, шишковидная железа. Плотность капилляров в этих областях является чрезвычайно высокой, а их эндотелий отличается большой проницаемостью. Сравнительно недавно были получены данные, показывающие, что ГЭБ практически отсутствует и в каудально-медиальной области NTS, т.е. там, где оканчиваются терминали афферентных волокон от mechanoreцепторов легких и дыхательных путей. Капилляры этой локальной области хорошо фенестрированы, что представляет цитокинам крови возможность прямого выхода в периваскулярное пространство и взаимодействия с нейронами NTS (Gross et al., 1990). Кроме того, установлено наличие аксональных проекций от области area postrema и большинства каудальных циркумвентрикулярных органов к ядру одиночного тракта, что является анатомическим путем, позволяющим циркулирующим медиаторам, выделяющимся в этих лишенных ГЭБ областях, передавать свои сигналы на нейроны NTS (Aylwin et al., 1998; Chen et al., 1998; Van der Kooy, Koda, 1983). К тому же при повышении уровня циркулирующих провоспалительных цитокинов (IL6, TNF α и IL-1 β) происходит увеличение проницаемости ГЭБ, что делает возможным проникновение в ЦНС не только цитокинов, но и клеток, которые их продуцируют (макрофаги, моноциты, лимфоциты, нейтрофилы).

Кроме того, установлено, что на синтез церебральных цитокинов влияет уровень циркулирующих периферических цитокинов. Показано, например, что IL-1 β постоянно определяется в ЦНС после периферической иммунной активации. Этот цитокин был обнаружен также в коре больших полушарий мозга мышей после его подкожного введения (Banks, Kastin, 1997). Установлено, что циркулирующий TNF- α (цитокин очень близкий по своим физиологическим эффектам к IL-1 β) стимулирует c-fos экспрессию в ядрах вовлекаемых в контроль автономных функций, включая ядро солитарного тракта и вентролатеральный отдел продолговатого мозга (Nadeau, Rivest, 1999), т.е. в тех областях мозгового ствола, которые принимают непосредственное участие в управлении дыханием. Показано, что интраперитониальное введение IL-1 β увеличивает матричную РНК (мРНК) интелейкина-1 β , фактора некроза α и интерлейкина-6 в ядре одиночного тракта (NTS), в гипоталамусе, гиппокампе, в соматосенсорной и инсулярной коре. Введение TNF- α также увеличивает уровень мРНК TNF- α , IL-1 β и IL 10 в NTS (Churchill et al., 2006). Предполагается, что циркулирующие воспалительные медиаторы могут

влиять на нейроны NTS непосредственно через локальный синтез цитокинов (Dantzer et al., 2000; Gordon, 2000; Maier et al., 1998). Таким образом, обнаруженное в нашем исследовании влияние ИЛ-1 β на ЦИА и ДО при системном введении могло определяться, также как и при его церебральном введении, действием на нейроны ДРГ дыхательного центра.

Однако, анализируя механизмы активирующего влияния циркулирующих цитокинов на функцию внешнего дыхания нельзя исключить и их возможное действие на периферические, каротидные хеморецепторы. Особенно это касается ИЛ-1 β , который как было показано, способен стимулировать гломусные клетки каротидного тела (Fernandez et al., 2011). На анестезированных крысах было установлено, что каротидное тело отвечает на цитокиновую стимуляцию (Shu et al., 2007; Liu et al., 2013). В гломусных клетках каротидного тела экспрессируются рецепторы ИЛ-1 первого типа. При их взаимодействии с циркулирующим ИЛ-1 β увеличивается скорость разрядов каротидного синусного нерва, иннервирующего этот орган и передающего афферентную импульсацию от периферических хеморецепторов на нейроны ДРГ. В результате усиливается активация а- инспираторных нейронов и возрастает ЦИА.

* * *

Итак, полученные нами данные подкреплены результатами других исследований и позволяют сделать следующие выводы:

1. Повышение церебрального и/или системного уровня ИЛ-1 β , одного из основных провоспалительных цитокинов, оказывает активирующее влияние на функцию внешнего дыхания.
2. Увеличение вентиляции легких вызванное действием ИЛ-1 β определяется увеличением центральной инспираторной активности и ростом дыхательного объема, что предполагает реализацию респираторного эффекта интерлейкина через нейроны дорсальной респираторной группы.

ГЛАВА 4. ВЛИЯНИЕ ИНТЕРЛЕЙКИНА-1 β НА ЦЕНТРАЛЬНУЮ ХЕМОРЕЦЕПЦИЮ

В основе регуляции функции внешнего дыхания лежат реакции дыхательной системы на изменение газового состава артериальной крови. Общий уровень легочной вентиляции, адекватный метаболическим потребностям организма, определяется интенсивностью афферентной импульсации, поступающей в дыхательный центр от центральных и периферических хеморецепторов. При этом основным стимулом, активирующим работу центрального дыхательного механизма, вызывающим увеличение центральной инспираторной активности и вентиляции легких, является гиперкапническая стимуляция медуллярных хемочувствительных нейронов – «центральных хеморецепторов». Рост вентиляции легких находится в прямой зависимости от содержания углекислого газа в артериальной крови, а точнее от вызванного им увеличения концентрации водородных ионов во внеклеточной жидкости мозговой ткани, омывающей центральные хеморецепторы расположенные на вентральной поверхности продолговатого мозга. Вентиляторная чувствительность дыхательной системы к гиперкапнии является важным звеном поддерживающим адекватный уровень вентиляции как в обычных условиях, так и при метаболических сдвигах и изменениях газового состава дыхательной среды. Поэтому при исследовании участия того или иного фактора в регуляции функции дыхания, важно знать, как он влияет на центральную хеморецепцию и вентиляторную чувствительность к гиперкапническому стимулу.

В данной работе, для того чтобы выяснить участвуют ли иммунные механизмы в регуляции центральной хеморецепции, проводился анализ изменений вентиляторного ответа и его составляющих на гиперкапническую стимуляцию центральных хеморецепторов возвратным дыханием гиперкапнически-гипероксической газовой смесью до и после повышения церебрального и системного уровня ИЛ-1 β .

4.1. 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 парциального давления CO₂ в крови наблюдалось увеличение средней скорости инспираторного потока (Винс), дыхательного объема (ДО) и минутного объема дыхания (МОД) как до введения вещества, так и после его введения. Однако сравнительный анализ, проведенный до и после введения ИЛ-1 β , выявил характерные различия в зарегистрированных кривых, характеризующих вентиляторный гиперкапнический ответ.

Графическая обработка данных показала, что после введения препарата уменьшается угол наклона линии тренда, усредняющей вентиляторные кривые, зарегистрированные в нескольких экспериментах (табл.4.1).

Таблица 4.1.

Динамика коэффициента « a », характеризующего угол наклона линий тренда в уравнении прямой $y=ax+k$, при модуляции вентиляторного ответа на гиперкапнию на фоне повышения церебрального уровня ИЛ-1 β .

параметр	фон	Интерлейкин-1 β (n=8)			
		20мин	40мин	60мин	90мин
a _{МОД}	5,694±0,398	2,434±0,170*	1,823±0,109*	2,910±0,436*	4,835±0,628
a _{ДО}	0,053±0,003	0,036±0,002*	0,031±0,003*	0,035±0,005*	0,044±0,006
a _{Винс}	0,263±0,016	0,136±0,005*	0,120±0,012*	0,165±0,025*	0,179±0,023

Обозначения: а_{МОД}, а_{ДО}, а_{Винс} – угловой коэффициент аппроксимированных прямых, который численно равен тангенсу угла между положительным направлением оси абсцисс и данной прямой, описывающей зависимость МОД, ДО, Винс от Р_{ET}CO₂. * - P<0.05.

После введения ИЛ-1 β линии тренда становятся более пологими, что свидетельствует о снижении чувствительности регистрируемых параметров (МОД, ДО, Винс) к гиперкапнической стимуляции. Отмеченный респираторный эффект ИЛ-1 β отчетливо проявлялся через 20 минут действия вещества, через 40 минут был

выражен максимально, через 60 минут снижался и исчезал через 90 минут после введения препарата (линии тренда становились параллельными) (см. рис. 4.1, 4.2, 4.3).

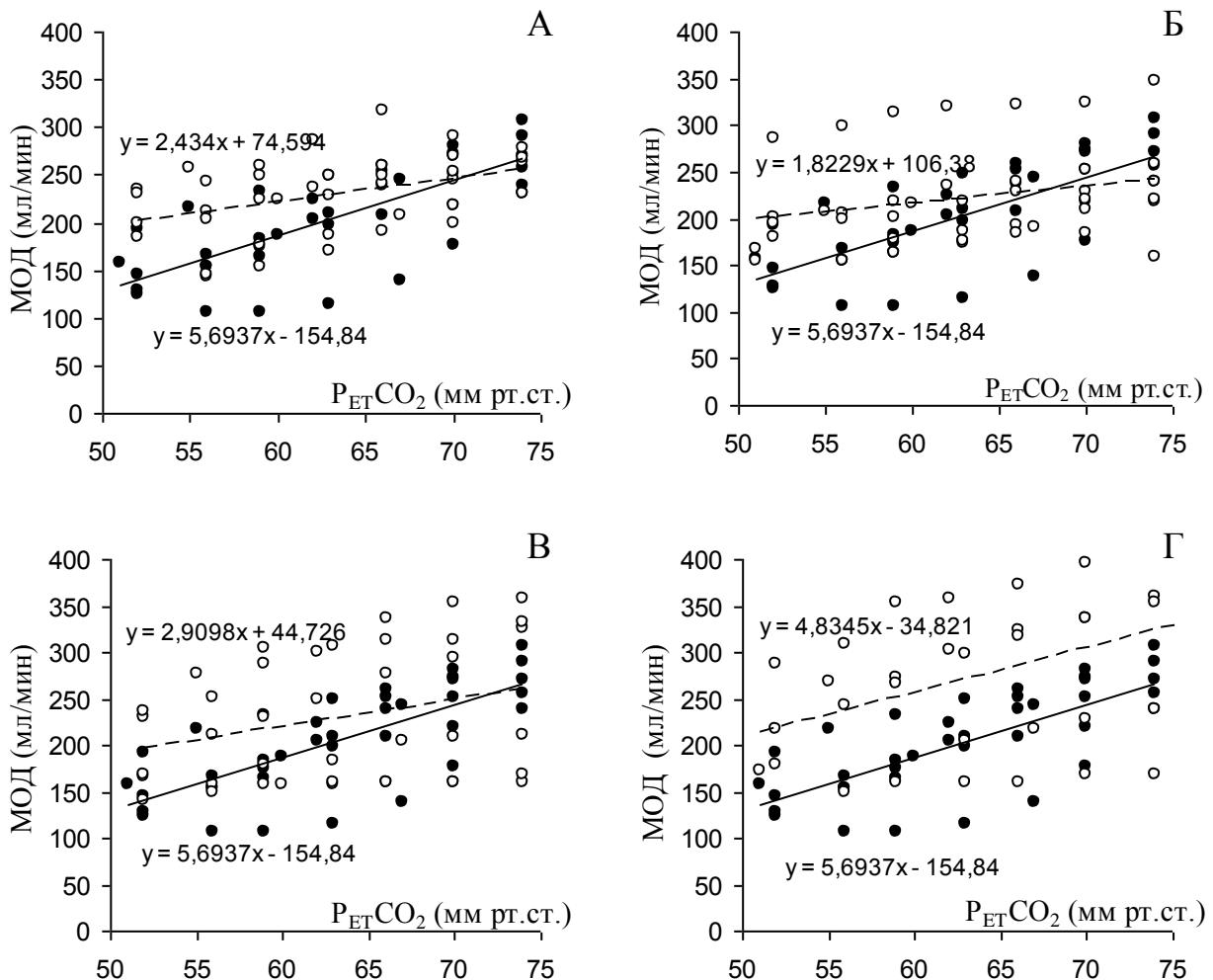


Рис.4.1. Зависимость МОД от величины гиперкапнического стимула до (сплошная линия) и после (прерывистая линия) интравентрикулярного введения ИЛ-1 β .

А – 20 мин, Б – 40 мин, В – 60 мин, Г – 90 мин после введения ИЛ-1 β .

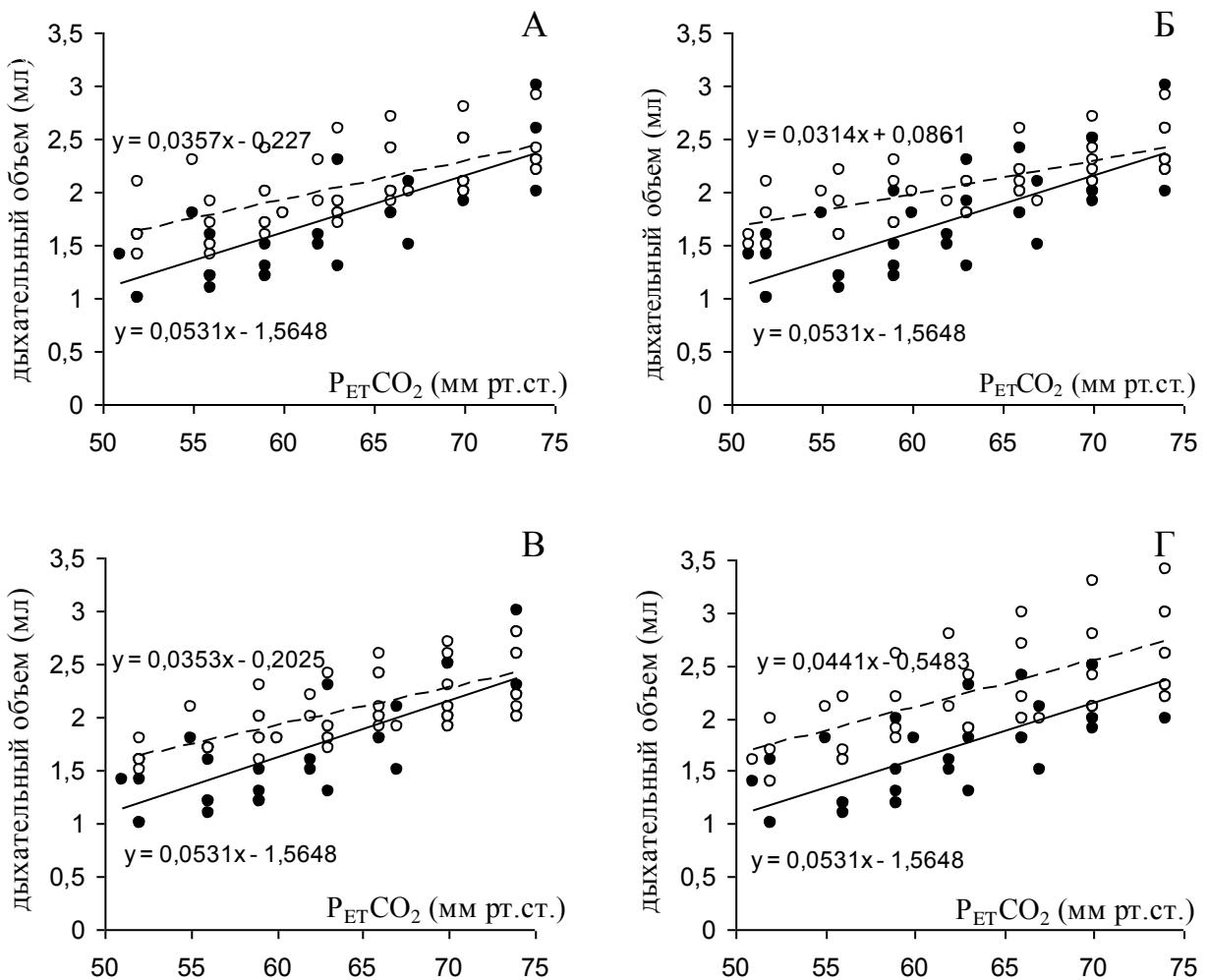


Рис.4.2. Зависимость дыхательного объема от величины гиперкапнического стимула до (сплошная линия) и после (прерывистая линия) интравентрикулярного введения ИЛ-1 β . Остальные обозначения как на рис.4.1.

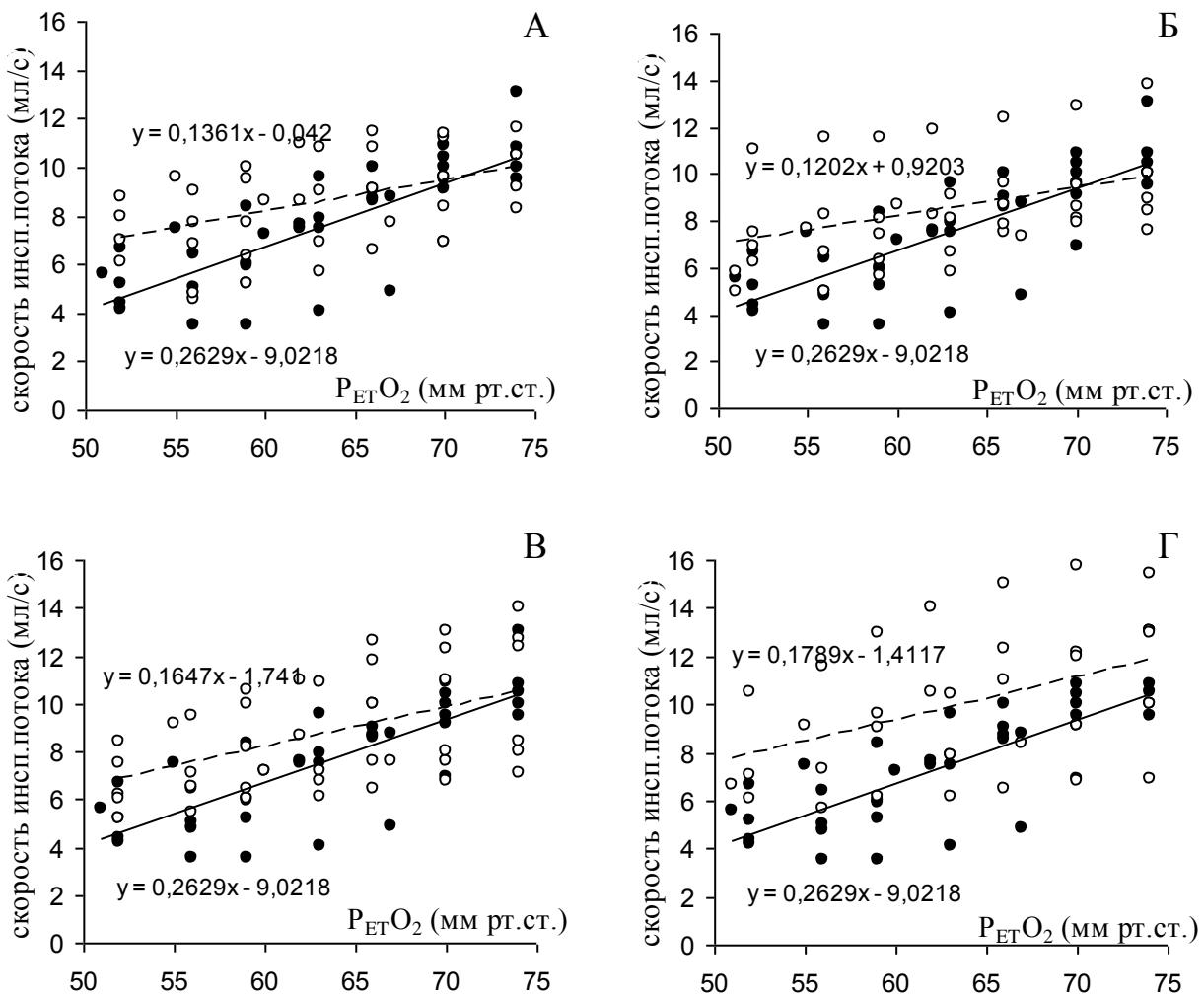


Рис.4.3. Зависимость средней скорости инспираторного потока от величины гиперкапнического стимула до (сплошная линия) и после (прерывистая линия) интравентрикулярного введения ИЛ-1 β . Остальные обозначения как на рис.4.1.

Было установлено, что изменения частоты дыхания не вносят вклад в наблюдаемое ослабление вентиляторных ответов на гиперкапнию.

Проведение количественных расчетов показало достоверное снижение величины прироста МОД, ДО и среднего инспираторного потока в ответ на гиперкапническую стимуляцию на фоне действия ИЛ-1 β . Установлено, что максимальный эффект проявлялся через 40 минут после церебровентрикулярного введения интерлейкина (рис. 4.4).

При этом прирост МОД при увеличении Р_{ET}CO₂ на 1 мм рт. ст. через 40 минут действия ИЛ-1 β снижался на 47%, прирост ДО – на 40% и средней скорости инспираторного потока на 38% по сравнению с фоновыми величинами (рис.4.4, табл. 4.2).

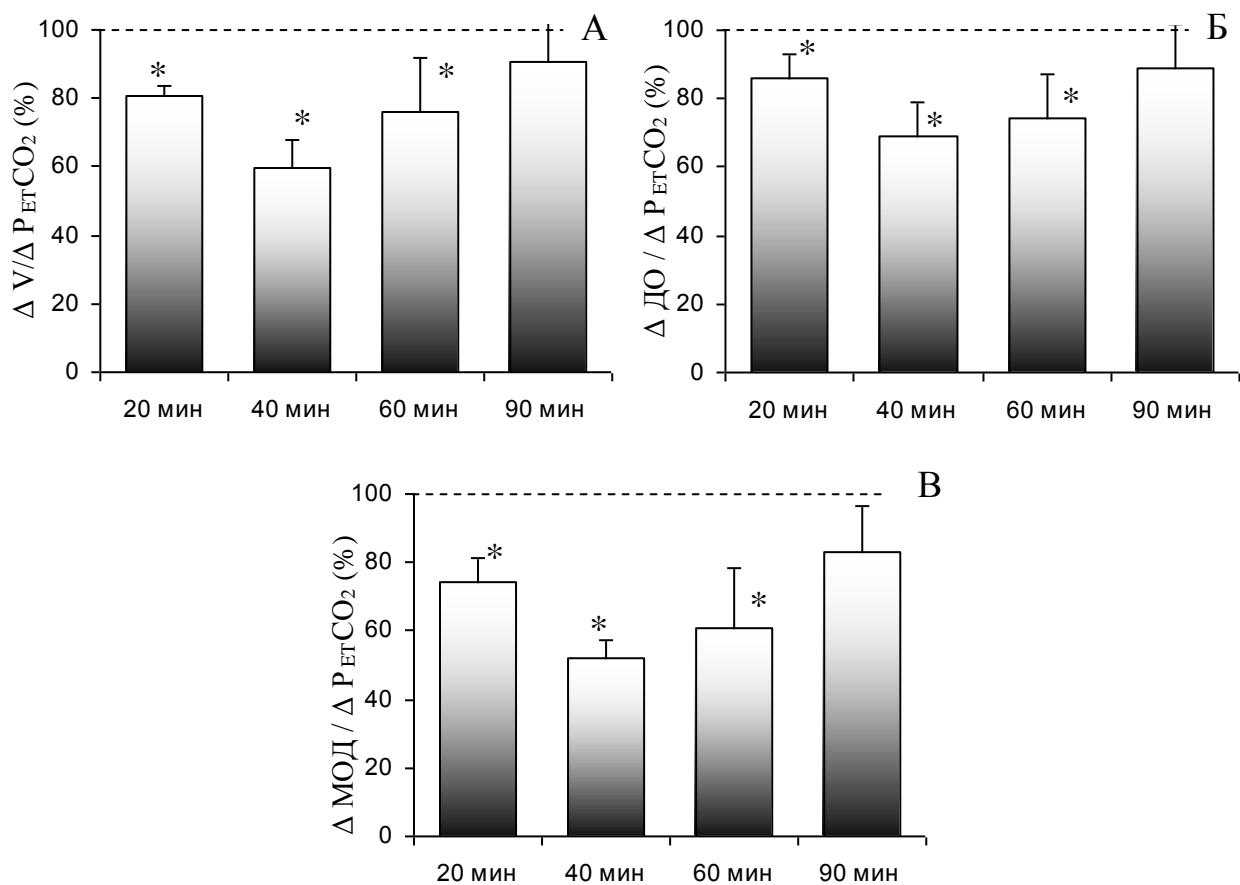


Рис.4.4. Влияние церебровентрикулярного введения ИЛ-1 β на величину прироста средней скорости инспираторного потока (А), дыхательного объема (Б), минутной вентиляции (В) в ответ на гиперкапническую стимуляцию.

По оси абсцисс: период времени прошедший после начала интравентрикулярного введения ИЛ-1 β . По оси ординат: величина прироста регистрируемых параметров при увеличении $P_{ET}CO_2$ на 1 мм рт.ст.

За 100% принята величина прироста параметров до введения ИЛ-1 β . * – достоверные отличия от фона при $P<0.05$.

В контрольных экспериментах с интравентрикулярным введением физиологического раствора не было обнаружено снижение угла наклона линий тренда и величины прироста регистрируемых параметров при гиперкапнической стимуляции после введения физиологического раствора (рис. 4.5).

Таблица 4.2.

Изменение вентиляторного ответа на CO_2 через 40 мин после повышения церебрального уровня ИЛ-1 β .

Параметры	Интерлейкин-1 β	
	до	После
$\Delta\text{МОД}$ (мл/мин/мм Hg)	$5,5 \pm 0,49$	$2,9 \pm 0,28^{**}$
$\Delta\text{ДО}$, мл/мм Hg	$0,05 \pm 0,005$	$0,03 \pm 0,003^*$
$\Delta\text{Винс}$ мл/с/мм Hg	$0,2 \pm 0,02$	$0,1 \pm 0,01^{**}$

Обозначения: $\Delta\text{МОД}$, $\Delta\text{ДО}$, $\Delta\text{Винс}$ – прирост минутного объема дыхания, дыхательного объема, средней скорости инспираторного потока при увеличении PCO_2 на 1 мм рт. ст. * – $P < 0,05$, ** – $P < 0,01$.

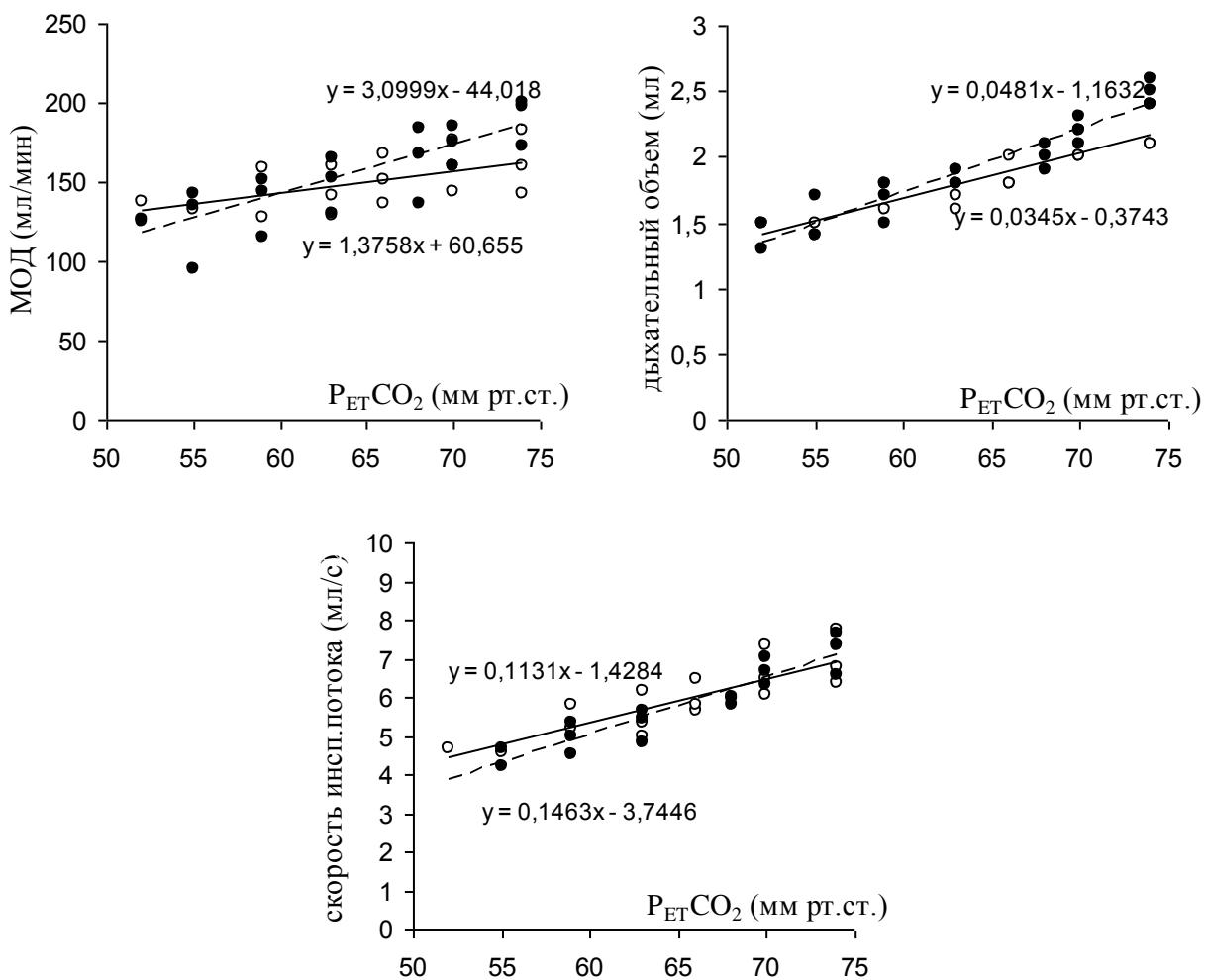


Рис.4.5 Зависимость минутного объема дыхания, дыхательного объема, средней скорости инспираторного потока от величины гиперкапнического стимула до (сплошная линия) и через 40 мин после (прерывистая линия) интравентрикулярного введения физиологического раствора.

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

В отличие от повышения церебрального уровня ИЛ-1 β , внутривенное введение ИЛ-1 β в кровеносную систему, повышающее его системный уровень, не оказывало достоверного влияния на компоненты вентиляторного гиперкапнического ответа. Угол наклона линий тренда, усредняющих кривые зависимости минутного объема дыхания, дыхательного объема и средней скорости инспираторного потока от интенсивности гиперкапнического стимула практически не изменялся (рис. 4.6, 4.7, 4.8, табл.4.3).

Таблица 4.3.

Динамика коэффициента « a », характеризующего угол наклона линий тренда в уравнении прямой $y=ax+k$, при модуляции вентиляторного ответа на гиперкапнию на фоне повышения системного уровня ИЛ-1 β .

параметр	фон	Интерлейкин-1 β (n=8)			
		20мин	40мин	60мин	90мин
$a_{\text{мод}}$	$6,976 \pm 0,698$	$5,544 \pm 0,832$	$6,803 \pm 1,361$	$6,424 \pm 0,771$	$5,280 \pm 0,475$
$a_{\text{до}}$	$0,065 \pm 0,004$	$0,057 \pm 0,008$	$0,073 \pm 0,009$	$0,066 \pm 0,007$	$0,055 \pm 0,006$
$a_{\text{Vинс}}$	$0,136 \pm 0,007$	$0,115 \pm 0,015$	$0,153 \pm 0,017$	$0,141 \pm 0,014$	$0,156 \pm 0,019$

Обозначения: $a_{\text{мод}}$, $a_{\text{до}}$, $a_{\text{Vинс}}$ – угловой коэффициент аппроксимированных прямых, который численно равен тангенсу угла между положительным направлением оси абсцисс и данной прямой, описывающей зависимость МОД, ДО, Винс от $P_{\text{ET}}\text{CO}_2$.

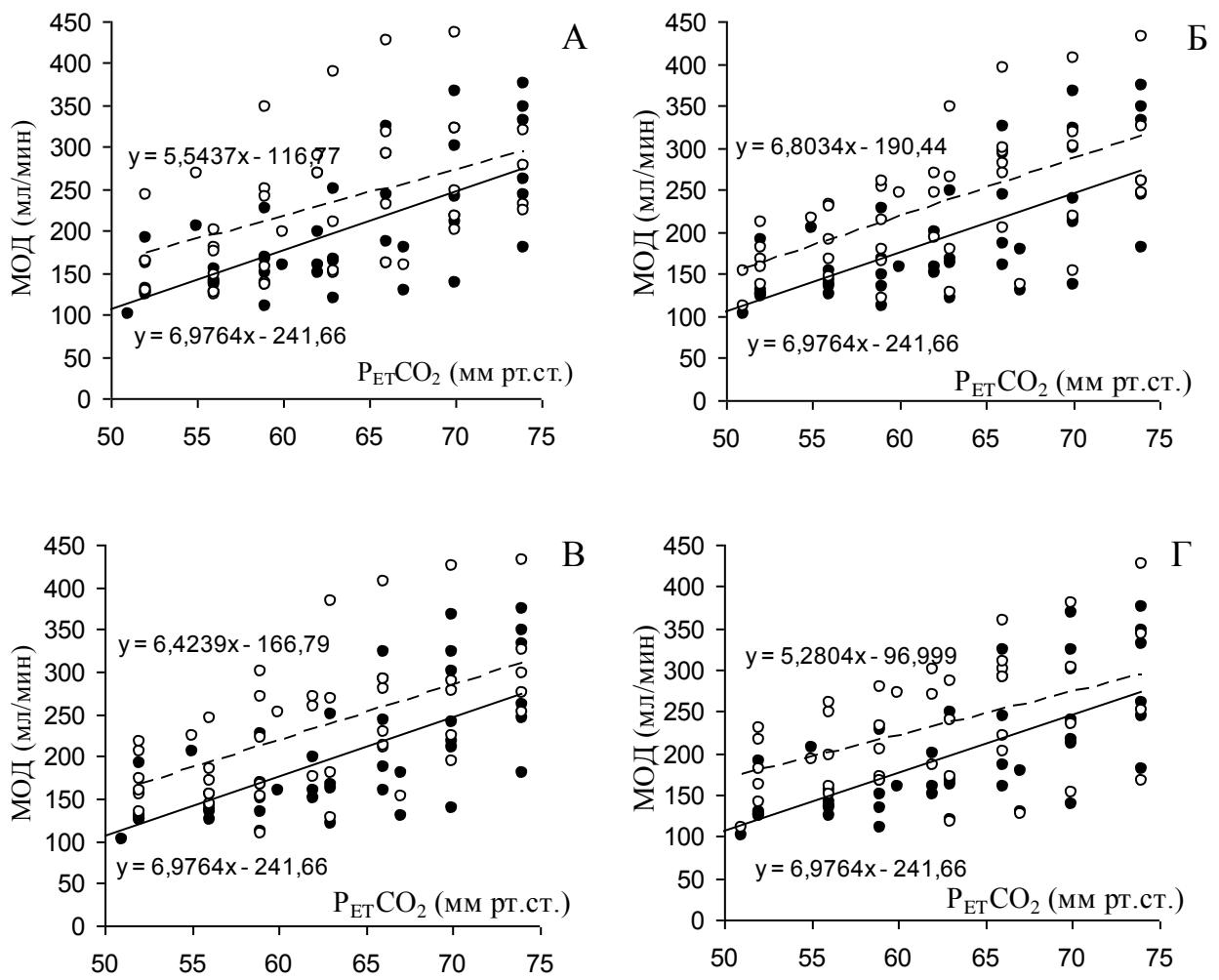


Рис.4.6 Зависимость МОД от величины гиперкапнического стимула до (сплошная линия) и после (прерывистая линия) внутривенного введения ИЛ-1 β .
А – 20 мин, Б – 40 мин, В – 60 мин, Г – 90 мин после введения ИЛ-1 β .

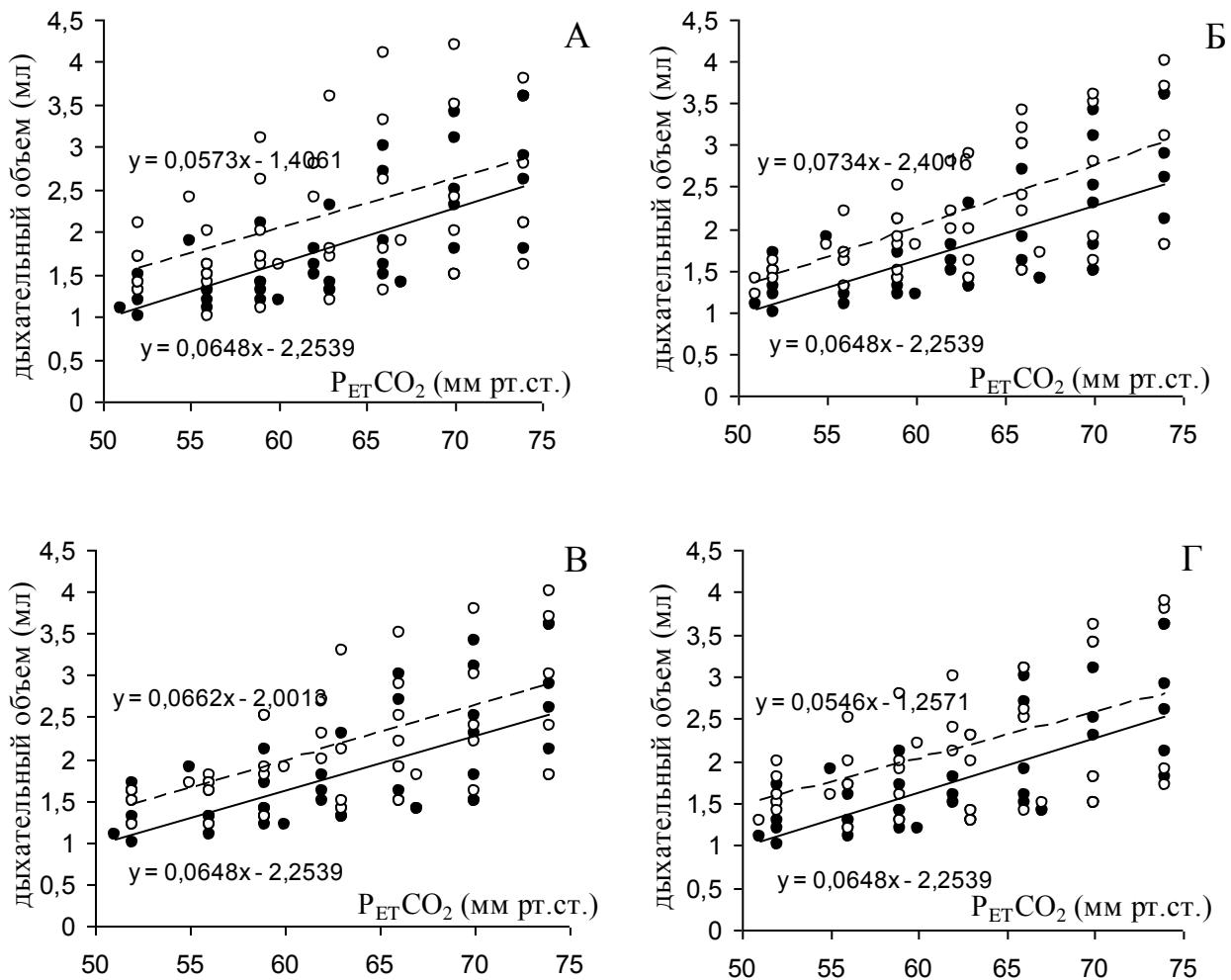


Рис.4.7 Зависимость дыхательного объема от величины гиперкапнического стимула до (сплошная линия) и после (прерывистая линия) внутривенного введения ИЛ-1 β . Остальные обозначения как на рис.4.6.

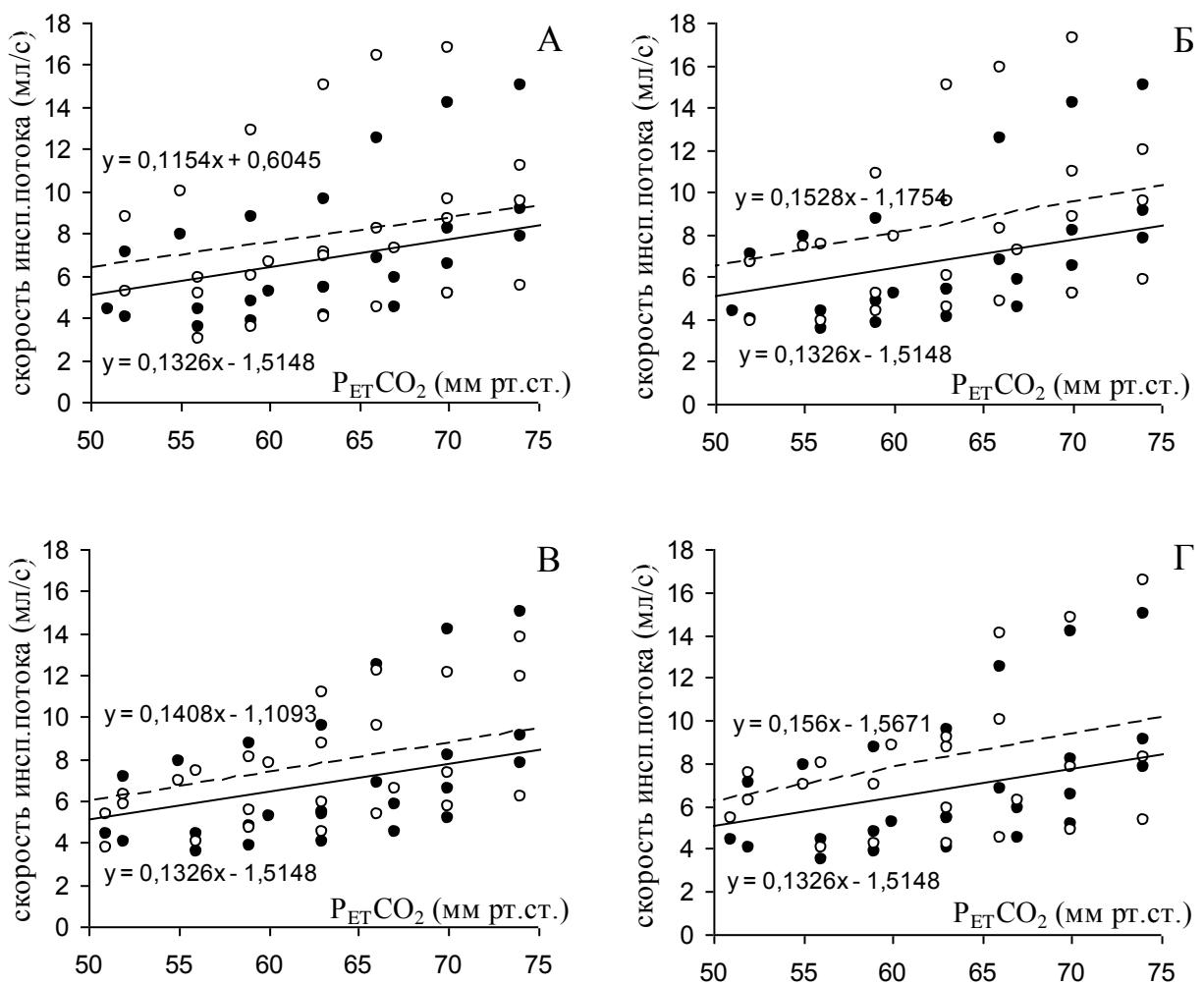


Рис.4.8. Зависимость средней скорости инспираторного потока от величины гиперкапнического стимула до (сплошная линия) и после (прерывистая линия) внутривенного введения ИЛ-1 β . Остальные обозначения как на рис.4.6.

Количественная обработка полученных данных показала отсутствие статистически значимых различий в приростах вентиляторных параметров в ответ на усиление гиперкапнического стимула до и после внутривенного введения ИЛ-1 β (рис.4.9).

Полученные данные свидетельствуют о том, что повышение системного уровня циркулирующего ИЛ-1 β не влияет на вентиляторную чувствительность к гиперкапнии. Наблюдается лишь небольшая тенденция к снижению прироста средней скорости инспираторного потока через 40 мин действия ИЛ-1 β . Однако она не является достоверной и не проявляется в других компонентах вентиляторного ответа.

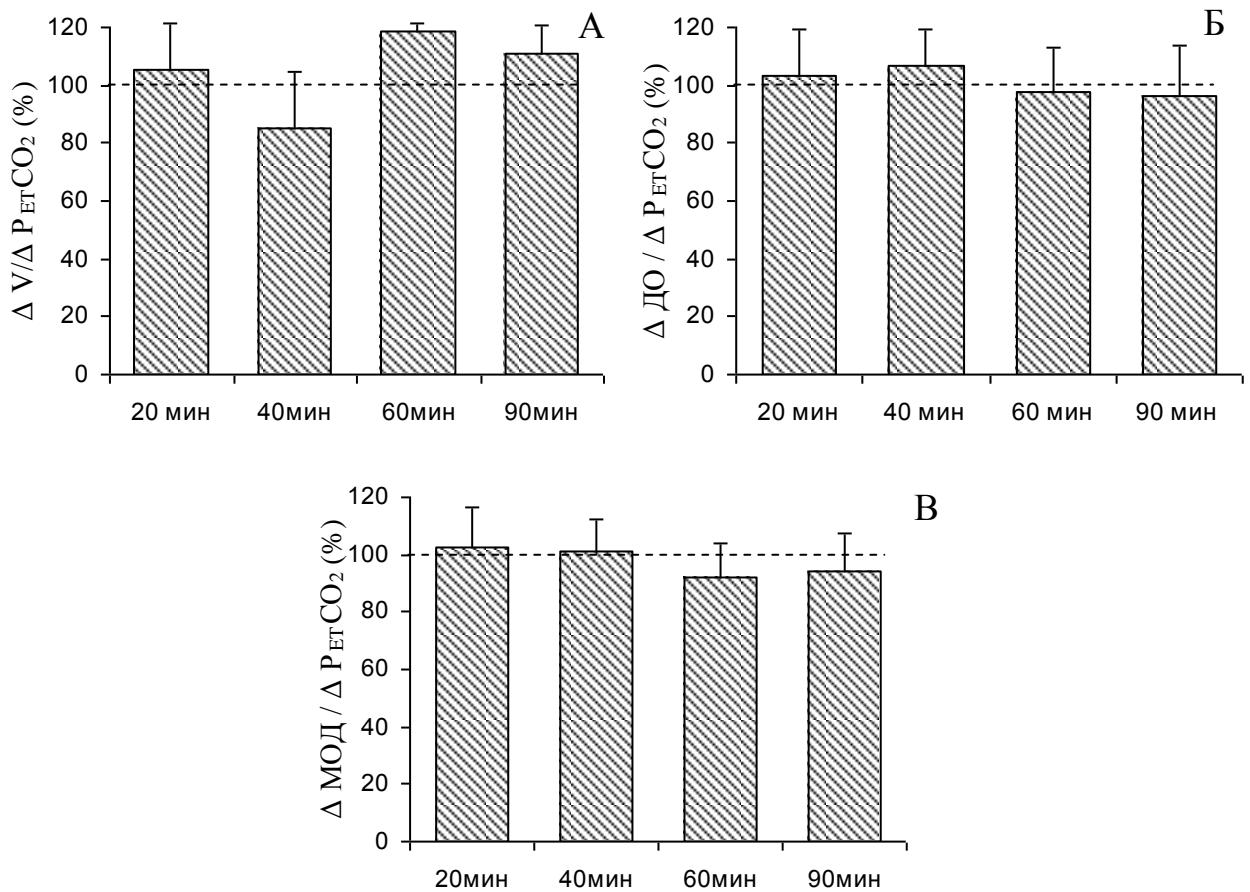


Рис.4.9. Влияние системного введения ИЛ-1 β на величину прироста средней скорости инспираторного потока (А), дыхательного объема (Б), минутной вентиляции (В) в ответ на гиперкапническую стимуляцию.

По оси абсцисс: период времени прошедший после начала введения ИЛ-1 β .

По оси ординат: величина прироста регистрируемого параметра 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-1 β .

4.3. Обсуждение полученных результатов

Полученные данные свидетельствуют о снижении вентиляторной чувствительности к гиперкапнии при повышении содержания ИЛ-1 β в цереброспинальной жидкости, что определяется влиянием этого цитокина на механизмы центральной хеморецепции, так как периферические хеморецепторы при дыхании использованной нами гипероксически-гиперкапнической газовой смесью (7% CO_2 , 60% O_2) не участвуют в формировании вентиляторных ответов. Это вызвано тем, что большое содержание кислорода в данной дыхательной смеси резко снижает активность периферических хеморецепторов. Известно, что порог реакции периферических хе-

морецепторов на гипоксический стимул соответствует напряжению кислорода в артериальной крови не превышающему 200 мм рт. ст. (Hayashi et al., 1983). При дыхании же газовой смесью содержащей 33 - 35% кислорода (т.е. более 210 мм рт. ст.) исчезает тоническое возбуждение хеморецепторных волокон (Dejours, 1962). В наших экспериментах использовалась газовая смесь содержащая 60% O₂, что гарантировало устранение периферических хеморецепторов из участия в исследуемой реакции.

Уменьшение прироста средней скорости инспираторного потока при гиперкапнической стимуляции на фоне действия ИЛ-1 β указывает на то, что данный цитокин влияет на центральную инспираторную активность, снижая ее прирост в ответ на хеморецепторную стимуляцию, что в свою очередь и вызывает обнаруженное снижение приростов ДО и МОД. Как известно, для формирования центральной инспираторной активности и ее динамики большое значение имеет интенсивность афферентного потока, поступающего от центральных хеморецепторов, локализованных в хемочувствительных зонах центральной поверхности ствола мозга к нейронам дорсальной респираторной группы, расположенной в вентролатеральной области ядра одиночного тракта (NTS). Импульсы от хеморецепторов в конечном итоге активируют расположенный здесь пул α -инспираторных нейронов (Ia), которые являются бульбоспинальными премоторными нейронами иннервирующими мотонейроны дыхательных мышц в передних рогах спинного мозга. Кроме NTS в головном мозге локализованы и другие ядра, обладающие хемочувствительностью. К ним относятся голубое пятно, каудальное ядро шва, ретро-трапециевидное ядро, латеральное парагигантоклеточное ядро, а также фастигиальные ядра мозжечка (Solomon, 2003; Putnam et al., 2004; Erlichman et al., 2009). Однако ведущее значение в механизмах центральной хеморецепции и формировании вентиляторного ответа на гиперкапнию принадлежит именно ядру солитарного тракта. Показано, что разрушение нейронов вентролатерального отдела ядра солитарного тракта (т.е. той его части, где локализована ДРГ) каневой кислотой вызывает снижение вентиляторной реакции на гиперкапнию (Berger et al., 1982). Тогда как микро-перфузия искусственной цереброспинальной жидкости, содержащей 25% CO₂ в области ядра солитарного тракта, напротив, усиливает дыхание (Nattie et al., 2002).

На то, что в обнаруженному нами эффекте интерлейкина задействованы именно нейроны ДРГ, указывает и тот факт, что динамика минутного объема дыхания полностью совпадала с динамикой дыхательного объема, а не частоты дыхания. Отчетливых изменений в частотном компоненте дыхательного ответа на гиперкапнию не наблюдалось. Следует заметить, что и в исследованиях других авторов (Zakynthinos et al., 2007), также как и в наших экспериментах было показано, что изменения частоты дыхания не вносят вклад в изменение вентиляторного ответа на гиперкапнию, которое определяется соответствующим изменением не частоты, а дыхательного объема. Этот факт можно объяснить тем, что амплитудные (объемные) и временные (частота, продолжительность инспирации и экспирации) параметры дыхания контролируются различными нейронными группами дыхательного центра (Speck, Feldman, 1982; Euler, 1983). В регуляции глубины дыхания и формировании объемных компонентов паттерна дыхания участвуют, прежде всего, нейроны дорсальной респираторной группы, которые практически не регулируют частоту дыхания (Bianchi et al., 1995; Feldman, 1987). Показано, что разрушение ДРГ электрическим током, сопровождается значительным уменьшением дыхательного объема, тогда как частота дыхания почти не изменяется (Speck et al., 1982). К тому же, иммуноцитохимические исследования показали хорошо выраженную экспрессию цитокинов и их рецепторов в ядрах мозгового ствола (Hansen et al., 1998a; Anisman, Merali, 2002), включая ядро солитарного тракта (Dantzer et al., 2000; Gordon, 2000; Maier et al., 1998) в области которого расположена ДРГ нейронов.

Логично предположить, что обнаруженный нами респираторный эффект интерлейкина мог проявляться либо через его влияние непосредственно на центральные хеморецепторы, снижая их чувствительность к гиперкапническому стимулу, либо через модуляцию синаптического взаимодействия между инспираторными нейронами дыхательного центра. В результате и в том, и в другом случае гиперкапническая стимуляция вызывала меньшую, чем в обычных условиях, активацию α -инспираторных нейронов. Ослабление α -инспираторной активности в свою очередь снижало сократительную активность дыхательных мышц, что и уменьшало прирост дыхательного объема и вентиляции легких в ответ на увеличение гиперкапнической стимуляции.

При обсуждении обнаруженного ингибирующего действия интерлейкина на центральную хеморецепцию неизбежно встает вопрос и о рецепторных механизмах опосредующих этот эффект. Ядро солитарного тракта обладает сложной нейрохимической организацией. Известные в настоящее время факты позволяют предположить, что в модуляцию реакций на гиперкапнию могут быть включены холинергические, ГАМК-, глутамат- и глицинергические медиаторные системы. Так, например, показано, что снижение вентиляторного ответа на гиперкапнию может происходить за счет ингибирования холинергической передачи (Trouth et al., 1993) или активации ГАМК- и глицинергических рецепторов (Curran et al., 2000; Messier et al., 2002, Putnam et al., 2004). Можно было бы предположить, что обнаруженное снижение вентиляторного ответа на гиперкапнию под действием ИЛ-1 β определялось модуляцией глутаматергических механизмов, т.к. показана возможность ИЛ-1 β изменять активность глутаматергической системы (Chao et al., 1995; Rothwell, 1999). Хотя следует учитывать и те факты, которые указывают на более существенный вклад в реализацию респираторного ответа на гиперкапнию тормозных ГАМКергических, а не активирующих глутаматергических механизмов (Peano., 1991; Horn et al., 1994 Zhang et al., 2003). В принципе этот вопрос требует проведения специальных экспериментальных исследований.

Полученные нами данные об ингибирующем влиянии провоспалительного цитокина на вентиляторный гиперкапнический ответ косвенно подтверждаются исследованием, проведенным на мышах с мышечной дистрофией, которые имеют ослабленную вентиляторную реакцию на гиперкапнию по сравнению с нормальными мышами. У таких животных конкурентное устранение провоспалительного цитокина TNF- α (посредством удаления гена для TNF- α) значительно улучшает вентиляторный ответ на гиперкапнию, что указывает на то, что эндогенно продуцируемый TNF- α угнетает этот ответ (Gosselin et al., 2003). Авторы этой статьи связывают угнетение вентиляторного ответа с ухудшением сократимости мышечных волокон диафрагмы, вызванным повреждающим действием провоспалительного цитокина. Наши данные позволяют предположить, что такой эффект мог быть вызван и центральным действием данного цитокина. Оно выражается в том, что эндогенно продуцируемый TNF- α , который является провоспалительным цитокином

очень близким к IL-1 β , может угнетать ту часть центрального дыхательного механизма, которая ответственна за хеморецепторную регуляцию дыхания.

Результатам нашего исследования соответствуют также данные, полученные при изучении вентиляторной чувствительности к гиперкапнии проведенном на здоровых испытуемых до и после приема антиоксидантов (Zakynthinos et al., 2007). В этой работе показано, что антиоксиданты способствуют повышению вентиляторного ответа на гиперкапнию, как при спокойном дыхании, так и при дыхании с инспираторной резистивной нагрузкой. Авторы объясняют этот эффект тем, что антиоксиданты уменьшают оксидативный стресс, развивающийся при резистивном дыхании. Однако известно, что оксидативный стресс усиливает экспрессию провоспалительных цитокинов. Поэтому результаты цитируемой работы опровергнуто подтверждают достоверность наших данных, показывающих, что увеличение уровня основного провоспалительного цитокина IL-1 β , вызывает противоположный эффект – снижение вентиляторной чувствительности к CO₂. На основании результатов, полученных при применении антиоксидантов, авторами был сделан вывод о том, что оксидативный стресс посредством индукции большого количества кислородных радикалов угнетает центральные хеморецепторы или их сигнальные каскады во время возвратного дыхания, а редукция кислородных радикалов антиоксидантами уменьшает это угнетение (Zakynthinos et al., 2007). Однако ранее на мозговом стволе крыс было показано, что хемочувствительные нейроны возбуждаются, а не угнетаются свободными кислородными радикалами (Mulkey et al., 2003; Mulkey et al., 2004). Наши данные позволяют объяснить это разногласие, указывая на то, что ослабление вентиляторного ответа на гиперкапнию может быть связано с действием не самих кислородных радикалов, а цитокинов, усилиению продукции которых способствуют свободные кислородные радикалы. Можно предположить, что несмотря на то, что сами кислородные радикалы, возможно, и активируют хеморецепторы, вторичное действие провоспалительных цитокинов ослабляет реакцию на гиперкапнию. Кроме того, в этом процессе могут участвовать и вторичные мессенджеры, образующиеся при цитокин-рецепторном взаимодействии, к которым относятся простагландины и оксид азота.

Отсутствие изменений в вентиляторном ответе на гиперкапнию при повышении системного уровня ИЛ-1 β указывает на то, что гематоэнцефалический ба-

рьер препятствует действию провоспалительных цитокинов на механизмы центральной хеморецепции.

Тем не менее, нам не удалось зарегистрировать влияние ИЛ-1 β на центральные хеморецепторы при его периферическом введении. Это указывает на то, что изменения в паттерне дыхания, которые наблюдались при системном введении ИЛ-1 β (глава 3) были связаны не с центральными, а с периферическим действием ИЛ-1 β , реализующимся через его влияние на периферические (артериальные) хеморецепторы.

* * *

Таким образом, результаты данной части исследования позволяют сделать следующие выводы:

1. Повышение церебрального уровня ИЛ-1 β ослабляет вентиляторную чувствительность к гиперкапнии, что указывает на участие провоспалительных цитокинов в механизмах центральной хеморецепции.
2. Повышение системного уровня ИЛ-1 β циркулирующего в кровеносном русле не оказывает влияния на гиперкапнический вентиляторный ответ.
3. Ингибирующее действие ИЛ-1 β на вентиляторный гиперкапнический ответ проявляется в ослаблении зависимости ЦИА, МОД и ДО от интенсивности гиперкапнического стимула. Отсутствие частотного компонента в проявлении этого эффекта предполагает его реализацию на уровне ДРГ нейронов дыхательного центра.

ГЛАВА 5. ВЛИЯНИЕ ИЛ-1 β НА ПЕРИФЕРИЧЕСКУЮ ХЕМОРЕЦЕПЦИЮ.

Кроме центральных хеморецепторов большая роль в регуляции функции внешнего дыхания принадлежит также периферическим хеморецепторам. Если центральные хеморецепторы обеспечивают стабильность легочной вентиляции, то периферические (каротидные и аортальные) хеморецепторы выполняет функцию срочного механизма реакции дыхания на изменение газового состава крови и, прежде всего, на дефицит кислорода. Периферическим хеморецепторам принадлежит основная роль в реализации вентиляторной реакции на гипоксию, имеющей большое значение для формирования компенсаторных и адаптивных ответов дыхательной системы на увеличение сопротивления дыханию, физическую нагрузку, изменение газового состава внешней среды и т.п. Предполагается, что состояние периферических хеморецепторов играет значительную роль в апноэ новорожденных. В экспериментальных исследованиях показано, что денервация каротидных тел влияет на дыхание, увеличивает количество эпизодов апноэ и повышает смертность среди новорожденных животных (Serra et al., 2001). В тоже время известно, что воспаление или острая инфекция, которые сопровождаются повышением уровня провоспалительных цитокинов, вызывают респираторную депрессию, резко увеличивают частоту и тяжесть апноэ у недоношенных младенцев (Froen et al., 2002; Hofstetter et al., 2008). Предполагается, что основной причиной этого является изменение гипоксической хемочувствительности, вызванное резким повышением уровня цитокинов во время ранней стадии инфекции/воспаления (Gauda et al., 2013). В связи с этим важной задачей является исследование влияния провоспалительных цитокинов на механизмы гипоксической хеморецепции, т.к. до сих пор нет ясности в том, как реализуются эти влияния, через центральные или периферические структуры, вызывая гипер- или гипочувствительность периферических хеморецепторов.

С этой целью на очередном этапе исследования производилось изучение влияния основного провоспалительного цитокина IL-1 β на вентиляторную чувствительность к гипоксии. Для стимуляции периферических хеморецепторов использовался метод возвратного дыхания гипоксической газовой смесью. Газовая

смесь содержала небольшое количество углекислого газа (5 % CO₂, 15% O₂ в азоте), что предотвращало развитие гипокапнии, которая сопровождает гипервентиляцию, вызванную дыханием чистой гипоксической газовой смесью. Наличие поглотителя CO₂, включенного в контур выдоха предотвращало накопление углекислого газа в мешке заполненном газовой смесью. В результате при возвратном дыхании в дыхательной газовой смеси изменялось (уменьшалось) лишь содержание кислорода, тогда как содержание углекислого газа оставалось на постоянном нормокапническом уровне. Это давало возможность изучения роли только гипоксического стимула в формирование вентиляторного ответа на хеморецепторную стимуляцию. Вентиляторный ответ на гипоксию тестировался до введения ИЛ-1β и после его введения.

Также как и при исследовании ответа на гиперкапнию IL-1β вводился либо в кровеносное русло (внутривенно), либо в цереброспинальную жидкость (интравентрикулярно). Повышение церебрального уровня интерлейкина позволяло воздействовать на центральные механизмы рефлекторного ответа на гипоксию, не затрагивая его периферический компонент, который определяется состоянием периферических (артериальных) хеморецепторов, расположенных в кровеносном русле. Для прямого воздействия на периферические хеморецепторы производилось внутривенное введение интерлейкина. При этом ожидалось получить ответ на вопрос, участвуют ли провоспалительные цитокины только в центральных механизмах гипоксической хеморецепции или могут влиять и на периферическую, собственно рецепторную часть хемочувствительного аппарата системы внешнего дыхания.

5.1. Вентиляторный ответ на гипоксию при повышении содержания IL-1β в цереброспинальной жидкости

При возвратном дыхании по мере постепенного усиления гипоксической стимуляции наблюдалось увеличение параметров характеризующих вентиляторный ответ – дыхательного объема (ДО), минутного объема дыхания (МОД) и средней скорости инспираторного потока (показателя центральной инспираторной активности) как до церебрального введения ИЛ-1β, так и после его введения. Сле-

дует отметить, что реакция на гипоксию, так же как и на гиперкапнию, у наркотизированной крысы выражалась, прежде всего, в увеличении ДО. Наблюдалось небольшое учащение дыхания, однако четкой прямолинейной зависимости между снижением $P_{ET}O_2$ в альвеолярном газе и увеличением частоты дыхания не обнаруживалось. Поэтому изменения в динамике МОД в большей степени совпадали с изменениями динамики дыхательного объема, чем частоты дыхания.

Под действием ИЛ-1 β угол наклона к оси абсцисс линий тренда, характеризующих зависимость между величиной регистрируемых параметров и степенью гипоксической стимуляции, изменялся. В течение первых 20 минут наблюдалась нестабильная реакция: в большинстве экспериментов он снижался, однако в некоторых случаях наблюдалось небольшое увеличение. Через 40 минут реакция приобретала устойчивый характер – происходило стабильное снижение угла наклона табл.5.1.

Таблица 5.1.
Динамика коэффициента «а», характеризующего угол наклона линий тренда в уравнении прямой $y=ax+k$, при модуляции вентиляторного ответа на гипоксию на фоне повышения церебрального уровня ИЛ-1 β .

параметр	фон	Интерлейкин-1 β (n=8)			
		20мин	40мин	60мин	90мин
a_{MOD}	-9,097±1,365	-8,815±2,204	-5,663±1,890*	-5,301±0,583*	-2,809±0,140*
a_{DO}	-0,068±0,012	-0,067±0,015	-0,045±0,008*	-0,040±0,002*	-0,026±0,002*
a_{Vinc}	-0,356±0,043	-0,161±0,032	-0,228±0,041*	-0,185±0,019*	-0,143±0,010*

Обозначения: a_{MOD} , a_{DO} , a_{Vinc} – угловой коэффициент аппроксимированных прямых, который численно равен тангенсу угла между положительным направлением оси абсцисс и данной прямой, описывающей зависимость МОД, ДО, Винс от $P_{ET}O_2$. * – $P<0.05$.

Таким образом, линии тренда характеризующие зависимость МОД, ДО и средней скорости инспираторного потока от гипоксической стимуляции становились более пологими, что свидетельствует об уменьшении вентиляторной чувствительности к гипоксии (рис.5.1, 5.2, 5.3). Максимальное проявление этого эффекта наблюдалось через 90 минут после центрального введения интерлейкина.

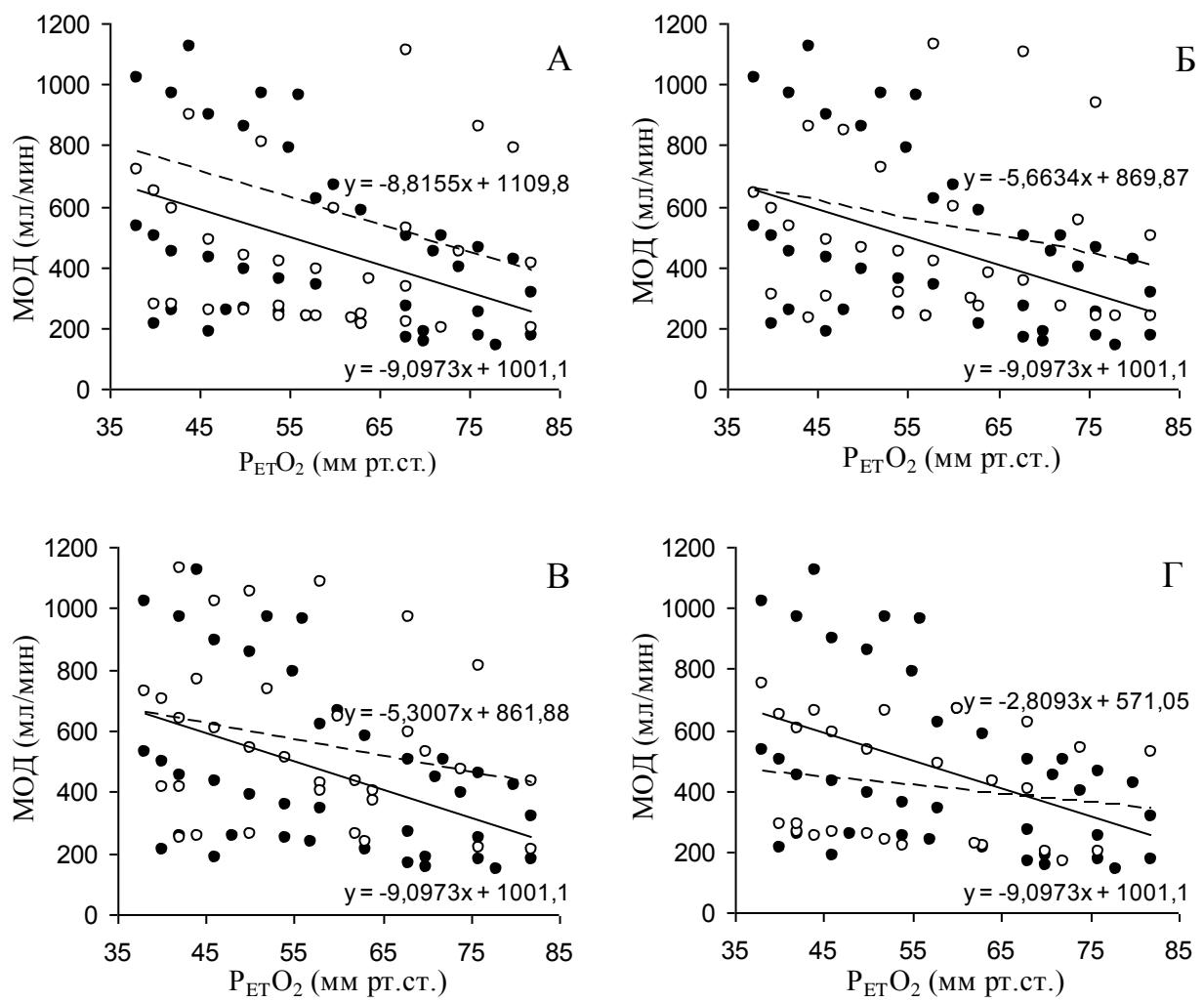


Рис.5.1. Зависимость МОД от величины гипоксического стимула до (сплошная линия) и после (штриховая линия) интравентрикулярного введения ИЛ-1 β .
А – 20 мин, Б – 40 мин, В – 60 мин, Г – 90 мин после введения ИЛ-1 β .

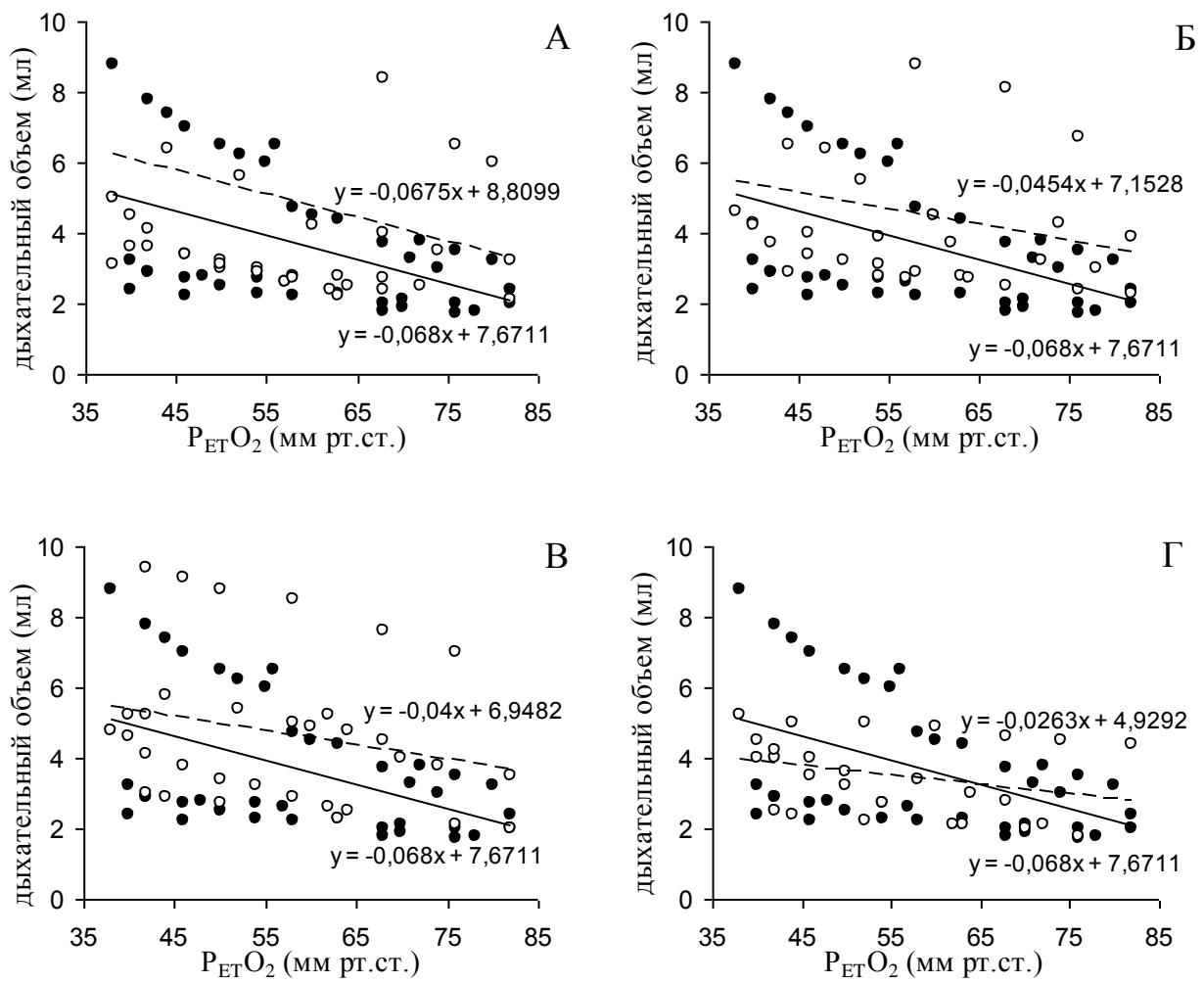


Рис.5.2. Зависимость дыхательного объема от величины гипоксического стимула до (сплошная линия) и после (штриховая линия) интравентрикулярного введения ИЛ-1 β .
Остальные обозначения как на рис.5.1.

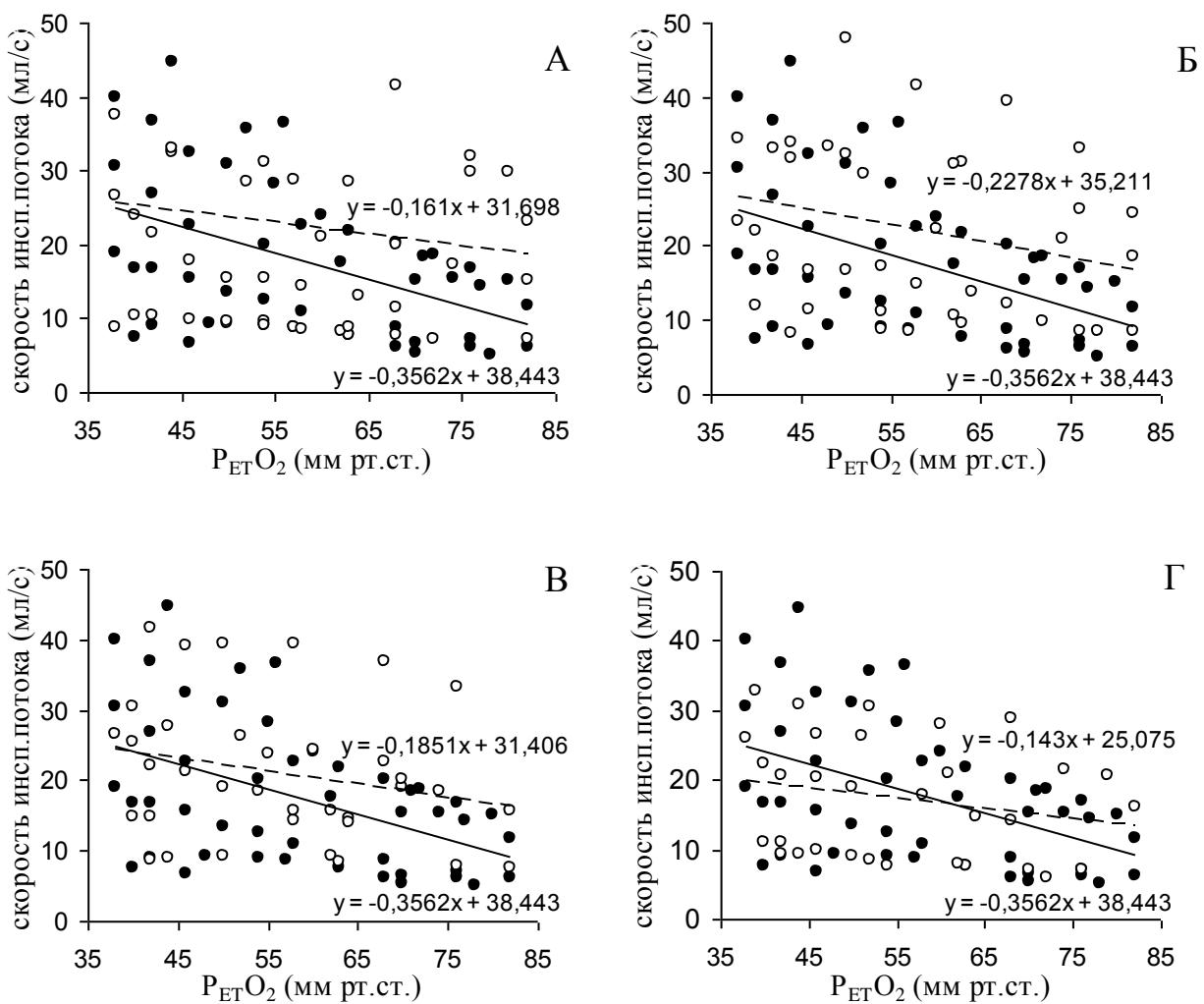


Рис.5.3. Зависимость средней скорости инспираторного потока от величины гипоксического стимула до (сплошная линия) и после (штриховая линия) интравентрикулярного введения ИЛ-1 β .
Остальные обозначения как на рис.5.1.

Проведение количественных расчетов подтвердило достоверность снижения прироста респираторных параметров в ответ на гипоксическую стимуляцию на фоне действия ИЛ-1 β . Расчет величины прироста параметров при снижении PETO₂ на 1 мм рт. ст. (так называемый «slope») показал, что через 40 минут после введения интерлейкина прирост МОД уменьшался на 41%, ДО – на 23% и скорости инспираторного потока - на 42% по сравнению с фоновыми величинами. Через 90 минут это снижение составило уже 61%, 38% и 45% соответственно. Динамика интенсивности влияния ИЛ-1 β на компоненты вентиляторного гипоксического ответа демонстрируется на рис.5.4.

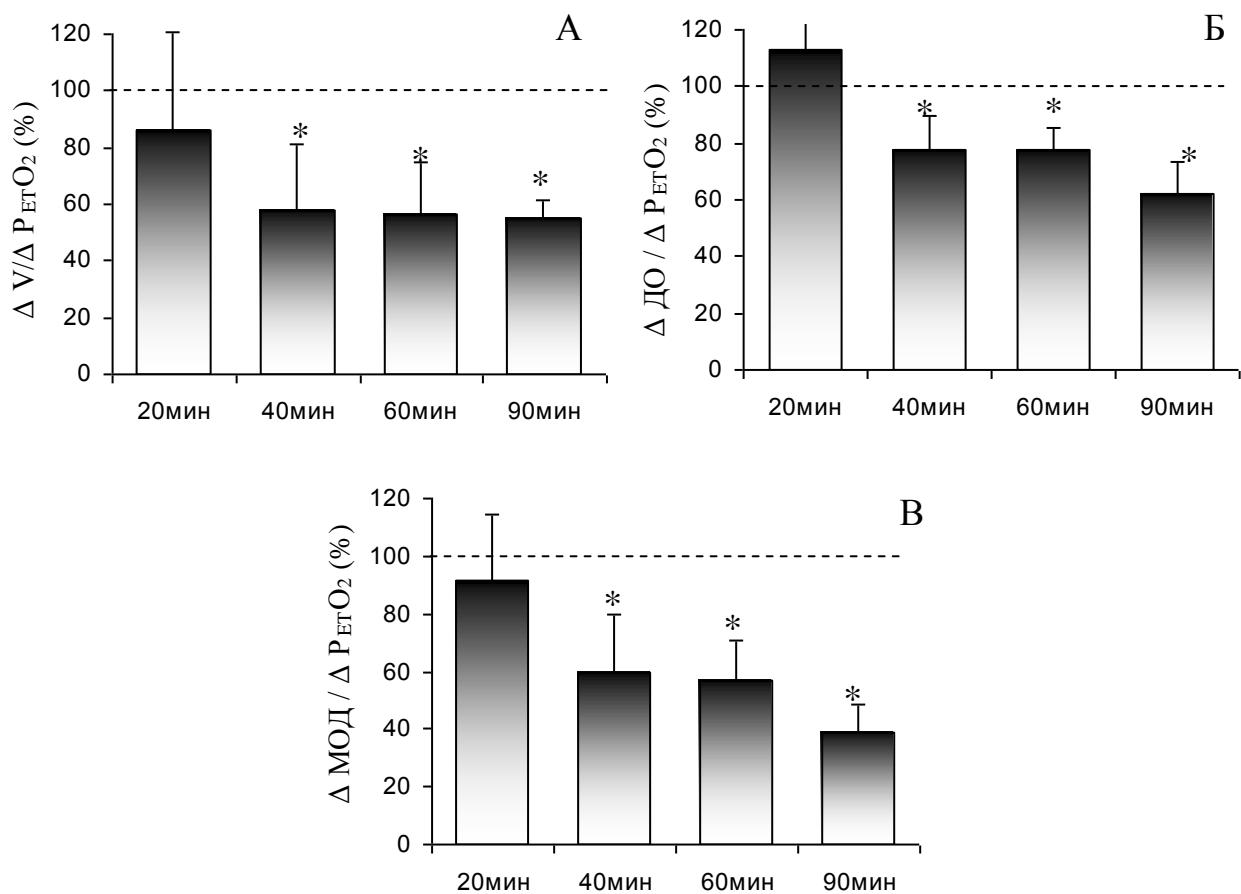


Рис. 5.4. Влияние интравентрикулярного введения ИЛ-1 β на величину прироста средней скорости инспираторного потока (А), дыхательного объема (Б), минутной вентиляции (В) в ответ на гипоксическую стимуляцию.

По оси абсцисс: период времени прошедший после начала введения ИЛ-1 β .

По оси ординат: величина прироста регистрируемого параметра 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-1 β .

* – достоверные отличия от фона при $P<0.05$.

В таблице 5.2 представлены фоновые значения «slope»_{ов} параметров вентиляторного ответа.

Таблица 5.2.
Фоновые значения приростов респираторных параметров
при снижении $P_{ET}O_2$ на 1 мм рт. ст.

	Винс (мл/с)	ДО (мл)	МОД (мл/мин)
slope	$0,36 \pm 0,14$	$0,06 \pm 0,02$	$9,13 \pm 3,46$

Обозначения: МОД – минутный объем дыхания; ДО – дыхательный объем; Винс – средняя скорость инспираторного потока.

Таким образом, в данной серии экспериментов было обнаружено, что повышение церебрального уровня основного провоспалительного цитокина ИЛ-1 β

вызывает снижение вентиляторного ответа на гипоксию. Снижается чувствительность к гипоксии всех компонентов вентиляторного ответа: дыхательного объема, минутного объема дыхания, средней скорости инспираторного потока (показателя центральной инспираторной активности).

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

При внутривенном введении интерлейкина, также как и при его центральном введении, наблюдается уменьшение угла наклона линий тренда (табл.5.3, рис.5.5, 5.6, 5.7) и приростов МОД, ДО и скорости инспираторного потока в ответ на усиление гипоксического стимула (рис.5.8).

Таблица 5.3.

Динамика коэффициента « a », характеризующего угол наклона линий тренда в уравнении прямой $y=ax+k$, при модуляции вентиляторного ответа на гипоксию на фоне повышения системного уровня ИЛ-1 β .

параметр	фон	Интерлейкин-1 β			
		20мин	40мин	60мин	90мин
$a_{\text{МОД}}$	$-3,160 \pm 0,316$	$-1,723 \pm 0,292^*$	$-1,678 \pm 0,184^*$	$-2,523 \pm 0,227^*$	$-2,423 \pm 0,242^*$
$a_{\text{ДО}}$	$-0,033 \pm 0,003$	$-0,025 \pm 0,003^*$	$-0,024 \pm 0,003^*$	$-0,026 \pm 0,003^*$	$-0,026 \pm 0,002^*$
$a_{\text{Vинс}}$	$-0,119 \pm 0,010$	$-0,065 \pm 0,009^*$	$-0,051 \pm 0,008^*$	$-0,076 \pm 0,013^*$	$-0,061 \pm 0,011^*$

Обозначения: $a_{\text{МОД}}$, $a_{\text{ДО}}$, $a_{\text{Vинс}}$ – угловой коэффициент аппроксимированных прямых, который численно равен тангенсу угла между положительным направлением оси абсцисс и данной прямой, описывающей зависимость МОД, ДО, Винс от $P_{\text{ET}}O_2$. * – $P < 0,05$.

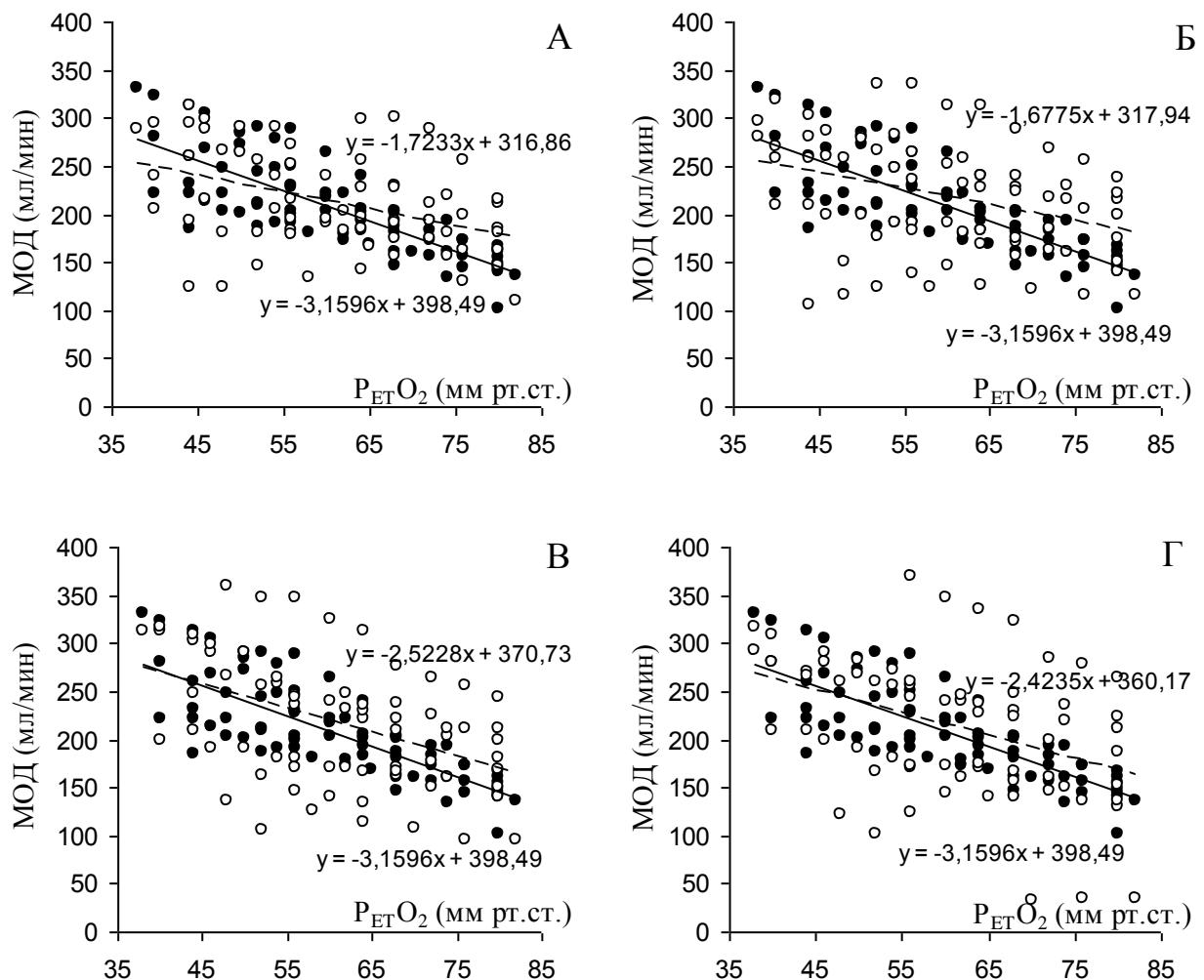


Рис.5.5. Зависимость МОД от величины гипоксического стимула до (сплошная линия) и после (штриховая линия) внутривенного введения ИЛ-1 β .
А – 20 мин, Б – 40 мин, В – 60 мин, Г – 90 мин после введения ИЛ-1 β .

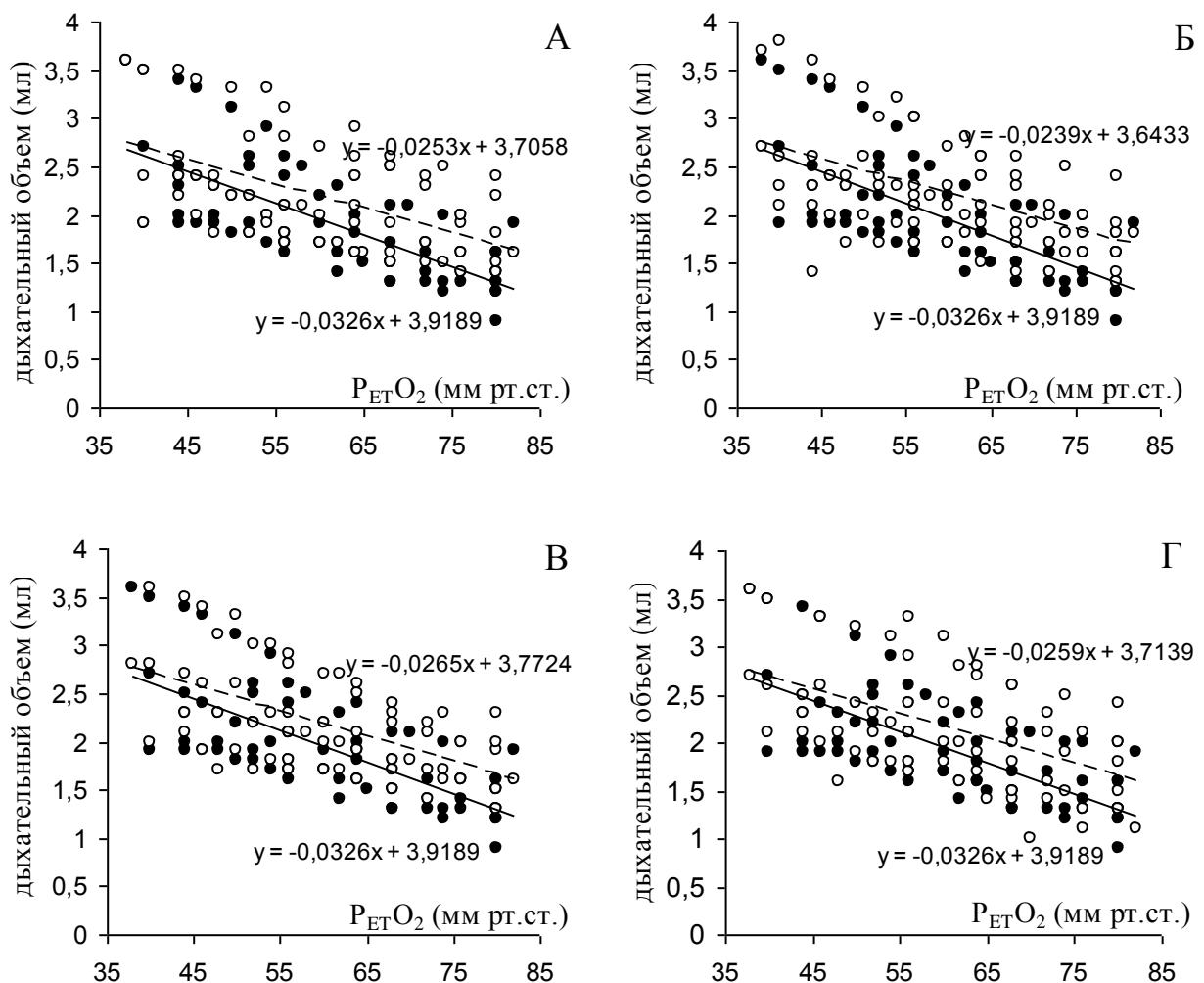


Рис.5.6. Зависимость дыхательного объема от величины гипоксического стимула до (сплошная линия) и после (штриховая линия) внутривенного введения ИЛ-1 β .

Остальные обозначения как на рис. 5.5.

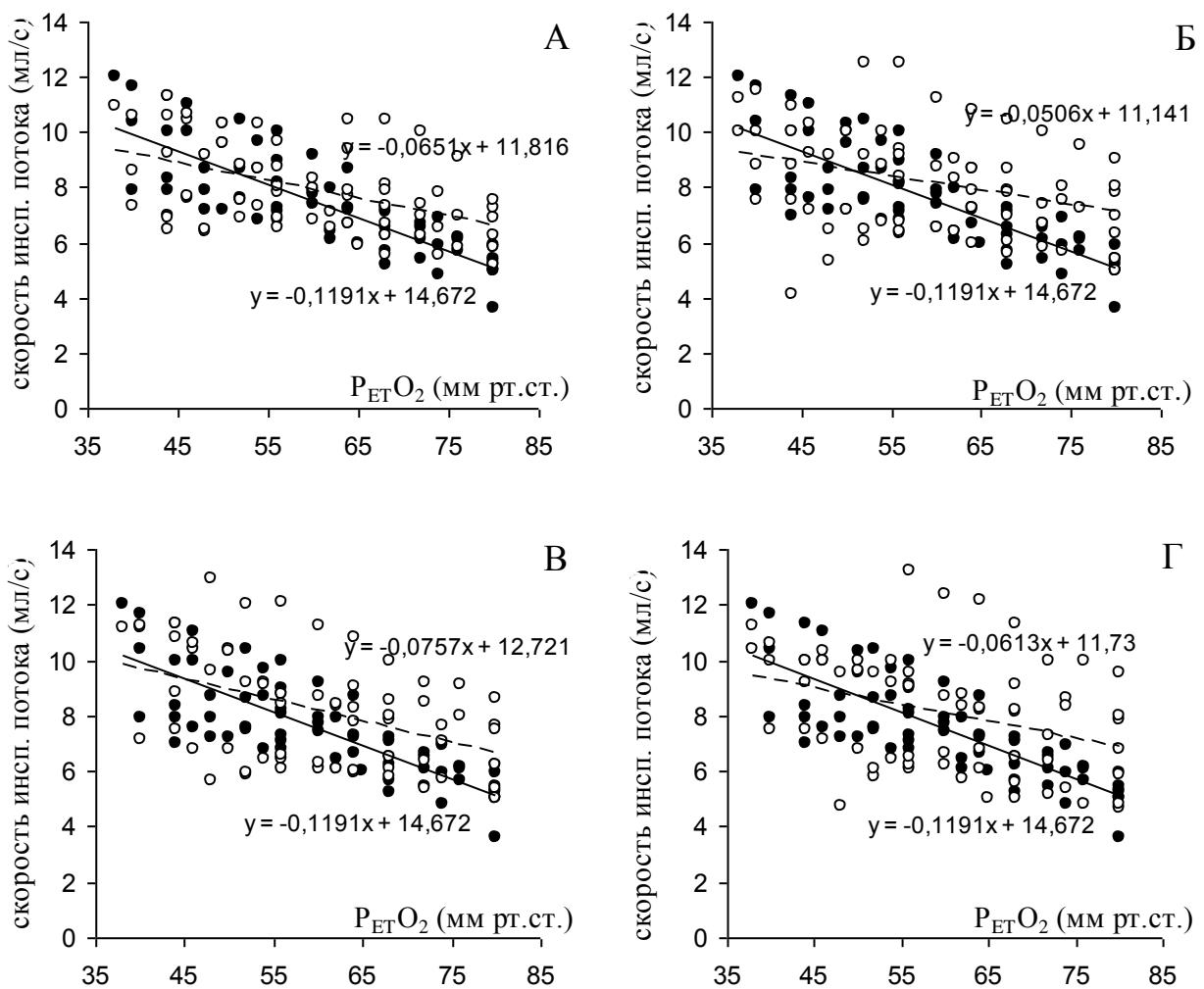


Рис.5.7. Зависимость средней скорости инспираторного потока от величины гипоксического стимула до (сплошная линия) и после (штриховая линия) внутривенного введения ИЛ-1 β .

Остальные обозначения как на рис. 5.5.

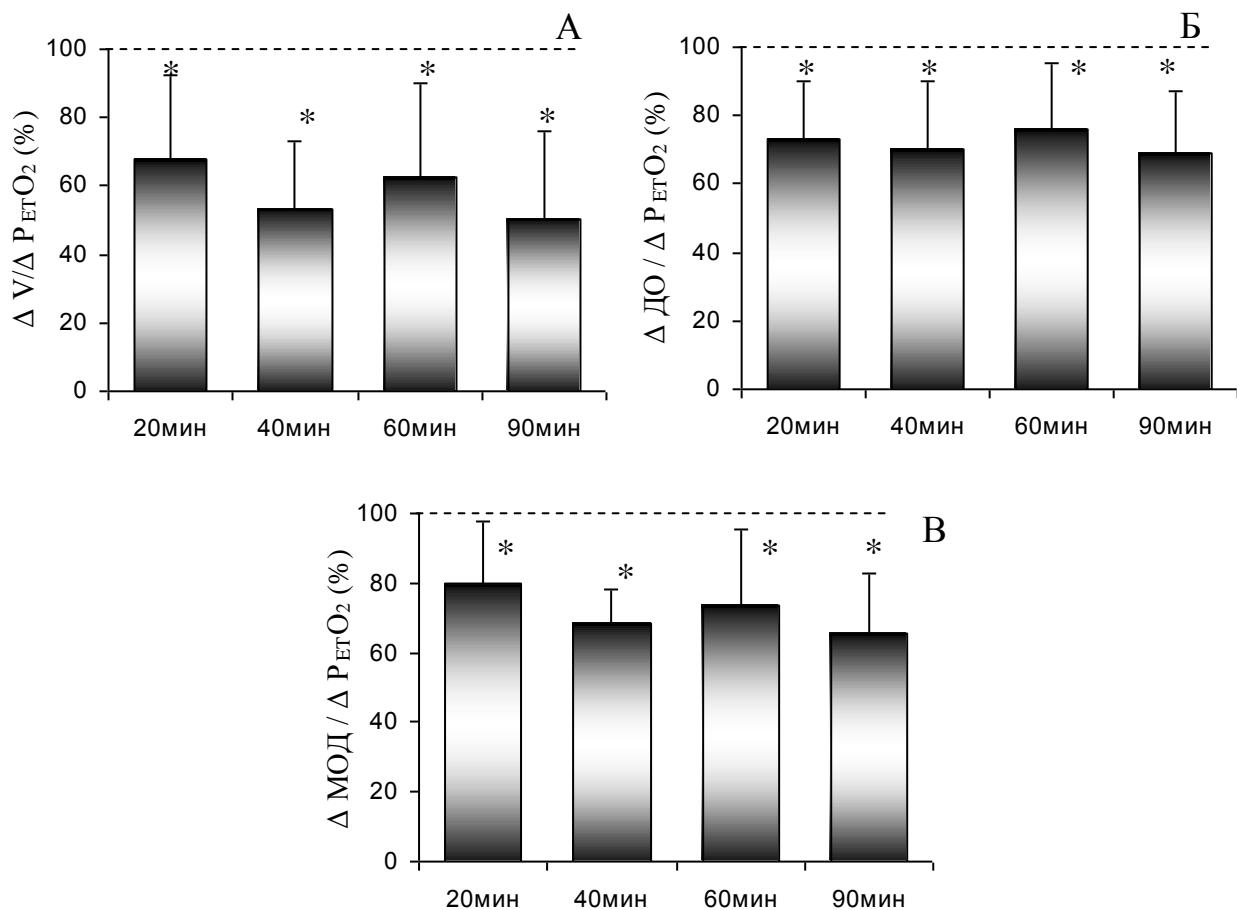


Рис.5.8 Влияние ИЛ-1 β на величину прироста средней скорости инспираторного потока (А), дыхательного объема (Б), минутной вентиляции (В) при гипоксической стимуляции (системное введение).

По оси абсцисс: период времени прошедший после начала системного введения ИЛ-1 β .

За 100% принята величина прироста параметров до введения ИЛ-1 β . * – достоверные отличия от фона при $P<0.05$.

При этом достоверное снижение приростов регистрируемых параметров в ответ на гипоксическую стимуляцию происходит уже через 20 минут после внутривенного введения ИЛ-1 β , тогда как при центральном введении достоверное изменение параметров характеризующих вентиляторный ответ на гипоксию наблюдается лишь через 40 минут. Соответственно и изменение наклона линии тренда через 20 минут действия интерлейкина больше выражено при внутривенном введении, чем при церебральном.

Рисунок 5.9 наглядно демонстрирует, как изменяется вентиляторная чувствительность к гипоксии по мере действия интерлейкина (от 20 до 90 минут после инъекции) при его центральном (рис.5.9А) и системном (рис.5.9Б) введении.

Ослабление ответа на гипоксию проявляется и в том и в другом случае, но при внутривенном введении этот эффект на 20 минуте действия ИЛ-1 β выражен более резко. При более длительном действии интерлейкина степень его влияния на гипоксический ответ уже не зависит от способа введения.

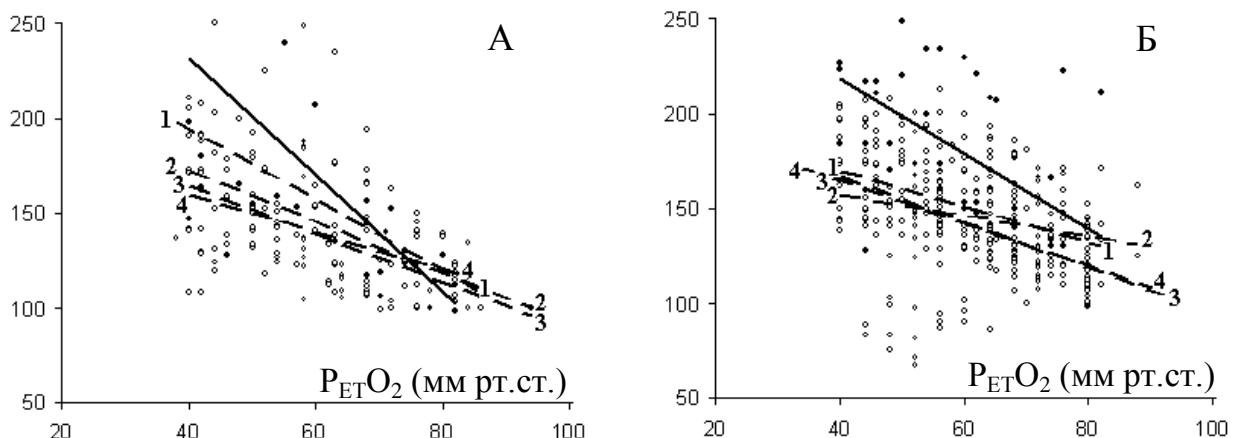


Рис. 5.9. Изменение МОД при возвратном дыхании гипоксической газовой смесью: А – при интравентрикулярном введении, Б – при системном введении.

По оси ординат: минутный объем дыхания, % от фонового значения. Сплошная линия – до введения ИЛ-1 β , пунктирные линии 1-1,2-2, 3-3, 4-4 – через 20, 40, 60, 90 минут после введения ИЛ-1 β соответственно.

Таким образом, полученные данные указывают на угнетение вентиляторного ответа на гипоксию при повышении как церебрального, так и системного уровня провоспалительного цитокина ИЛ-1 β . Динамика изменения гипоксического ответа при разных способах введения интерлейкина в принципе одинакова. Различия выражаются лишь в том, что при внутривенном введении ИЛ-1 β этот эффект развивается быстрее, чем при его церебральном введении.

5.3. Обсуждение полученных результатов

Обнаруженное снижение прироста средней скорости инспираторного потока при возвратном дыхании гипоксической газовой смесью на фоне повышенного как церебрального, так и системного уровня ИЛ-1 β указывает на ослабление прироста центральной инспираторной активности на хеморецепторную стимуляцию, что в свою очередь и вызывает снижение приростов ДО и МОД. Тот факт, что снижение

прироста МОД в ответ на гипоксическую стимуляцию на фоне действия ИЛ-1 β было вызвано соответствующими изменениями в приросте ДО, а не частоты дыхания, позволяет предполагать реализацию центрального эффекта интерлейкина прежде всего на уровне ДРГ нейронов дыхательного центра. Именно этот отдел дыхательного центра выполняет роль центрального генератора паттерна и участвует в регуляции глубины дыхания, тогда как в ВРГ расположен генератор ритма, регулирующий частоту дыхания (Speck, Feldman, 1982; Euler, 1983).

Известно, что в ДРГ по синусному нерву поступает афферентная импульсация от периферических хеморецепторов, активируя расположенный здесь пул α -инспираторных нейронов (Ia), который формирует центральную инспираторную активность (ЦИА) и посыпает эфферентную импульсацию в спинной мозг к ядрам дыхательных мышц. Поэтому в конечном итоге обнаруженный нами респираторный депрессивный эффект интерлейкина должен проявляться через снижение активности α -инспираторных нейронов дыхательного центра, которое может быть вызвано разными причинами: уменьшением притока афферентной импульсации от периферических хеморецепторов, вследствие ослабления их чувствительности при системном введении ИЛ-1 β и/или торможением нейронов центральной респираторной сети и синаптических взаимодействий между ними при центральном введении ИЛ-1 β .

Так как в основе механизма респираторных реакций на гипоксию и обеспечения вентиляторной чувствительности к недостатку кислорода лежит поступление в ядро солитарного тракта афферентных сигналов от каротидных тел, то анализируя влияние ИЛ-1 β на вентиляторный гипоксический ответ, прежде всего, необходимо рассмотреть вероятность участия в этом эффекте периферических хеморецепторов.

Сравнительно недавно было показано, что каротидное тело отвечает на цитокиновую стимуляцию и играет роль в нейро-иммунном взаимодействии. Как оказалось, основные провоспалительные цитокины и их рецепторы, такие как TNF- α , его рецептор TNF-R2 (Fernandez et al., 2011), IL-1 β и его рецептор IL-1R1 (Zhang et al., 2007), а также IL-6 и его рецептор IL-6Ra (Wang et al., 2006) экспрессируются в гломусных клетках каротидного тела. Экзогенное введение IL-1 β in vivo стимулирует гломусные клетки и значительно увеличивает частоту разрядов

синусного нерва иннервирующего каротидное тело (Shu et al., 2007). Такой же эффект наблюдается при экзогенном введении другого провоспалительного цитокина TNF- α (Fernandez et al., 2011). Однако провоспалительные цитокины вызывают увеличение активности синусного нерва лишь в фоне, при спокойном не стимулируемом дыхании. Увеличивая фоновую активность синусного нерва цитокины в тоже самое время снижают его реактивность, хемочувствительность. Наблюдается уменьшение в изменении активности синусного нерва в ответ на острые возбуждающие (гипоксия, никотин) и тормозящие (дыхание кислородом) стимулы (Fernandez et al., 2008). Так, введение LPS, повышающее уровень провоспалительных цитокинов в организме, увеличивает базовую респираторную частоту, но уменьшает вентиляторный ответ на 10 секундную экспозицию азота (Fernandez et al., 2008). Показано, что введение LPS новорожденным крысам вызывая увеличение экспрессии генов IL-1 β и IL-6 в каротидных телах, увеличивает дыхательную нестабильность и уменьшает хемочувствительность каротидного синусного нерва (Gauda et al., 2013).

На основании перечисленных исследований можно сделать вывод, что гломусные клетки первого типа внутри каротидного тела экспрессируют рецепторы для воспалительных цитокинов, и когда цитокин взаимодействует с этими рецепторами, он прямо модифицирует возбудимость клеток 1 типа, инициируя каскад событий изменяющих активность синусного нерва и затем вентиляцию. Логично предположить, что и в наших экспериментах повышение системного уровня ИЛ-1 β , могло модифицировать (ослаблять) хемочувствительность каротидных хеморецепторов, что вносило определенный вклад в снижение вентиляторного ответа на гипоксию в этих условиях. В результате после внутривенного введения ИЛ-1 β тот же самый уровень гипоксической стимуляции в меньшей степени увеличивал активность синусного нерва и соответственно в меньшей степени активировал Ia нейроны ДРГ, чем до его введения. Возможно, что именно этим механизмом объясняется обнаруженное нами более быстрое развитие угнетающего влияния ИЛ-1 β на гипоксический вентиляторный ответ при его системном введении по сравнению с церебральным. Кроме того, в наших экспериментах снижение вентиляторного ответа на гипоксию происходило на фоне увеличения базовых величин респираторных параметров

(МОД, ДО, частоты дыхания), которое было вызвано действием ИЛ-1 β при дыхании воздухом (перед проведением гипоксической пробы). Именно такая реакция соответствует реакции синусного нерва на действие провоспалительных цитокинов, обнаруженной в выше перечисленных исследованиях других авторов.

Ослабление вентиляторного гипоксического ответа обнаружено нами при центральном введении ИЛ-1 β могло быть связано с его депрессивным влиянием на центральную респираторную сеть. Так, например, в проведенных недавно исследованиях было обнаружено, что увеличение экспрессии ИЛ-1 β и ИЛ-6 в продолговатом мозге новорожденных крыс (вследствие трахеального введения LPS) сопровождается снижением вентиляторного ответа на гипоксию даже у животных с денервированными каротидными телами (Balan et al., 2011, 2012). Показано, что в ответ на инфекцию, провоспалительные цитокины, такие как ИЛ-1 β , а также простагландин Е2, продукция которого усиливается при взаимодействии ИЛ-1 β с рецептором, вызывают торможение центральной респираторной сети (Herlenius, 2011). Центральный депрессивный вентиляторный эффект ИЛ-1 β предполагается также в работе, проведенной на новорожденных крысятах, в которой было показано, что животные, которым интраперитониально вводился ИЛ-1 β , имели меньшую вентиляторную реакцию на аноксию и не могли поддерживать судорожные вдохи, вызванные аноксией так долго как контрольные животные (Hofstetter, Herlenius, 2005). Эти данные позволяют предположить наличие не только периферического, но и центрального компонента обнаруженных нами влияний ИЛ-1 β на вентиляторную чувствительность к гипоксии. Тем более, что как показано в работе Hofstetter с соавторами (2007), через 20 минут после внутривенного введения ИЛ-1 β увеличивается концентрация PGE₂ в цереброспинальной жидкости латеральных желудочков. Как известно, PGE₂ продуцируется при цитокин-рецепторном взаимодействии и выполняет функцию вторичного месенджера во внутриклеточных каскадах реакций, вызываемых данным цитокином. (Hofstetter et al., 2007).

Таким образом, анализ результатов проведенного исследования, а также данных литературы позволяет сделать заключение о том, что повышение как центрального, так и системного уровня ИЛ-1 β оказывает влияние на механизмы периферической хеморецепции посредством как центрального (на уровне бульбарного дыхательного центра), так и периферического (на уровне периферических хе-

морецепторов) действия, которое может реализовываться через усиление продукции простагландинов. Обоснованию этого предположения посвящена следующая глава диссертации.

* * *

Таким образом, результаты проведенного исследования дают основание сделать следующие выводы:

1. Экзогенное повышение содержания ИЛ-1 β как в цереброспинальной жидкости, так и в плазме крови снижает вентиляторный ответ на гипоксию.
2. Гематоэнцефалический барьер не препятствует проявлению обнаруженного респираторного эффекта ИЛ-1 β .
3. Депрессивное влияние ИЛ-1 β на вентиляторную чувствительность к гипоксии может быть опосредовано как его центральными эффектами на уровне нейронов бульбарного дыхательного центра, так и угнетением чувствительности периферических хеморецепторов.

ГЛАВА 6. РОЛЬ ПРОСТАГЛАНДИНОВ В РЕАЛИЗАЦИИ РЕСПИРАТОРНЫХ ЭФФЕКТОВ ИНТЕРЛЕЙКИНА-1 β

В предыдущих главах диссертации было показано, что увеличение церебрального и системного уровня провоспалительного цитокина ИЛ-1 β влияет на центральный контроль респираторной функции, модулируя базовые параметры дыхания и изменяя вентиляторную чувствительность к гипоксии и гиперкапнии. Для полного понимания роли ИЛ-1 β в центральной регуляции дыхания необходимо выяснение механизмов, посредством которых реализуются обнаруженные респираторные эффекты ИЛ-1 β .

Современными исследованиями показано, что повышение не только церебрального, но и системного уровня ИЛ-1 β вызывает активацию нейронов в респираторно-зависимых районах мозгового ствола (Ericsson et al., 1994). В тоже время ИЛ-1 β является крупной липофобной пептидной молекулой, которая, несмотря на наличие некоторых возможностей, все же не может легко проходить через гематоэнцефалический барьер. Более того, прямое действие ИЛ-1 β на респираторные нейроны мозгового ствола *in vitro* не изменяет их активность (Olsson et al., 2003). Это дает основание предполагать, что в основе центральных респираторных эффектов ИЛ-1 β лежит непрямой механизм, связанный с активацией системы вторичных мессенджеров при цитокин-рецепторном взаимодействии на клеточных элементах мозга. Роль таких посредников могут выполнять простагландины (PG) (эйкосаноиды, производные арахидоновой кислоты). Они в большом количестве экспрессируются периваскулярными, эпендимными клетками и клетками церебрального эндотелия при активации имеющихся здесь цитокиновых рецепторов (Nadeau, Rivest, 1999; Wong et al., 1995). Являясь небольшими растворимыми молекулами, PG легко проникают через плазмолемму и гематоэнцефалический барьер. С их помощью цитокины могут влиять на функцию даже тех нейронов, которые не имеют цитокиновых рецепторов. Возможно, что и в основе респираторных эффектов ИЛ-1 β , его депрессивного влияния на механизмы центральной и периферической хеморецепции лежит действие простагландинов.

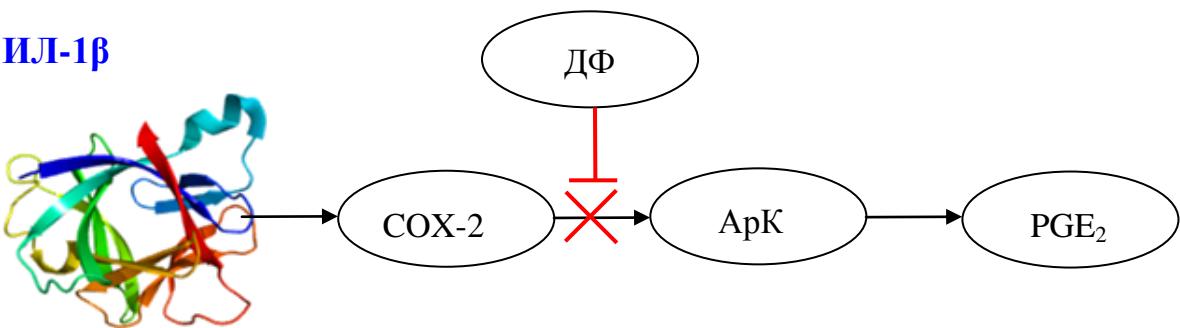


Рис. 6.1. Схема ингибирования циклооксигеназной активности диклофенаком. ИЛ-1 β – интерлейкин-1 β , COX-2 – циклооксигеназа-2, PGE₂–простагландин E₂, ДФ – диклофенак, АрК – арахидоновая кислота. Объяснения в тексте.

Для проверки этого предположения было поставлено три серии экспериментов, в которых влияние ИЛ-1 β на вентиляторные ответы на гипоксию и гиперкапнию исследовалось на фоне действия диклофенака, неспецифического ингибитора циклооксигеназы, фермента необходимого для образования простагландинов при метаболизме арахидоновой кислоты. Диклофенак, ингибируя циклооксигеназу, нарушает метаболизм арахидоновой кислоты и резко уменьшает образование простагландинов. (рис. 6.1).

6.1. Модуляция вентиляторного ответа на гиперкапнию интерлейкином-1 β при ингибировании циклооксигеназной активности

В наших экспериментах было обнаружено, что повышение церебрального уровня ИЛ-1 β ослабляет вентиляторную чувствительность к гиперкапнии. В данной главе будут рассмотрены результаты, полученные при интравентрикулярном введении ИЛ-1 β в сочетании с интраперитониальным введением диклофенака.

6.1.1. Вентиляторный ответ на гиперкапнию при повышении церебрального уровня IL-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 параметров вентиляторного ответа (МОД, ДО, Винс) от величины гиперкапнической стимуляции после введения ИЛ-1 β не изменялся на протяжении всего эксперимента.

та (рис. 6.2, 6.3, 6.4). На рисунке 6.5 демонстрируется сравнение результатов полученных в двух конкретных экспериментах: с введением диклофенака и в отсутствии диклофенака. Даже через 40 минут после церебровентрикулярного введения ИЛ-1 β , когда, как показано в четвертой главе диссертации, наблюдается максимальное снижение вентиляторного ответа на гиперкапнию, не происходит значительного уменьшения угла наклона линий тренда если ИЛ-1 β вводится на фоне действия диклофенака.

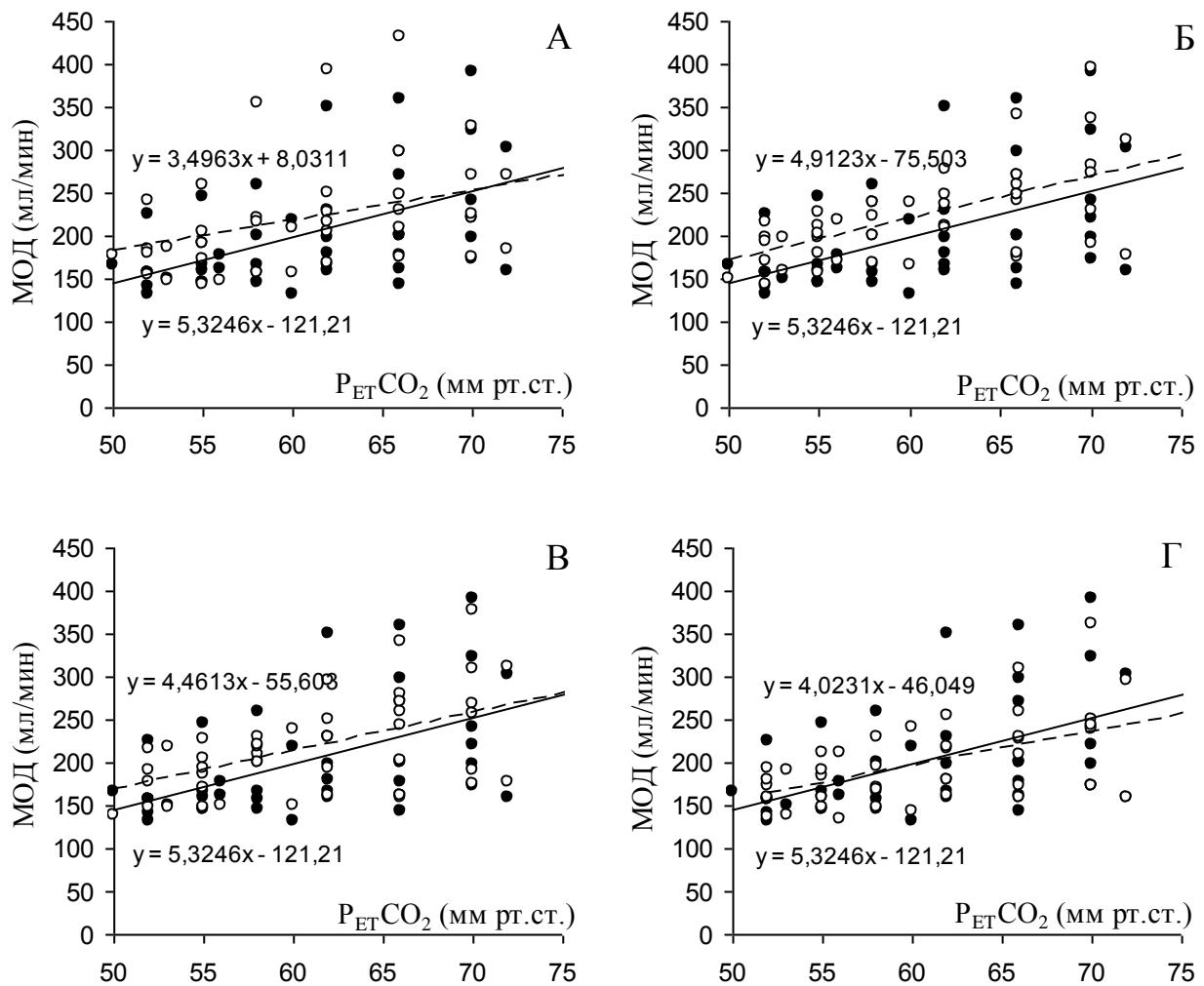


Рис. 6.2. Зависимость минутного объема дыхания от величины гиперкапнического стимула до (сплошная линия) и после (штриховая линия) интравентрикулярного введения ИЛ-1 β на фоне действия диклофенака.

А, Б, В, Г – через 20, 40, 60 и 90 минут после введения ИЛ-1 β соответственно.

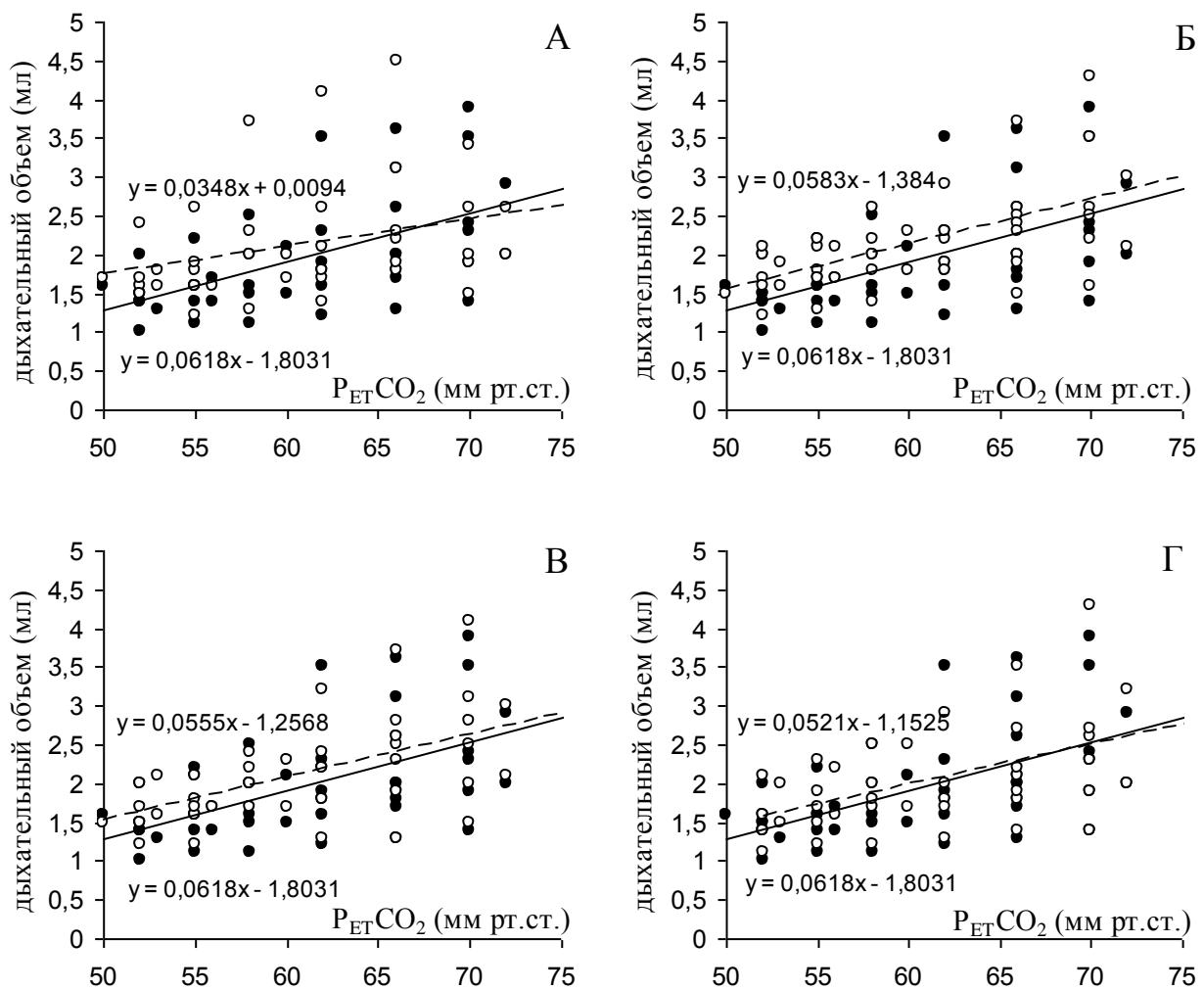
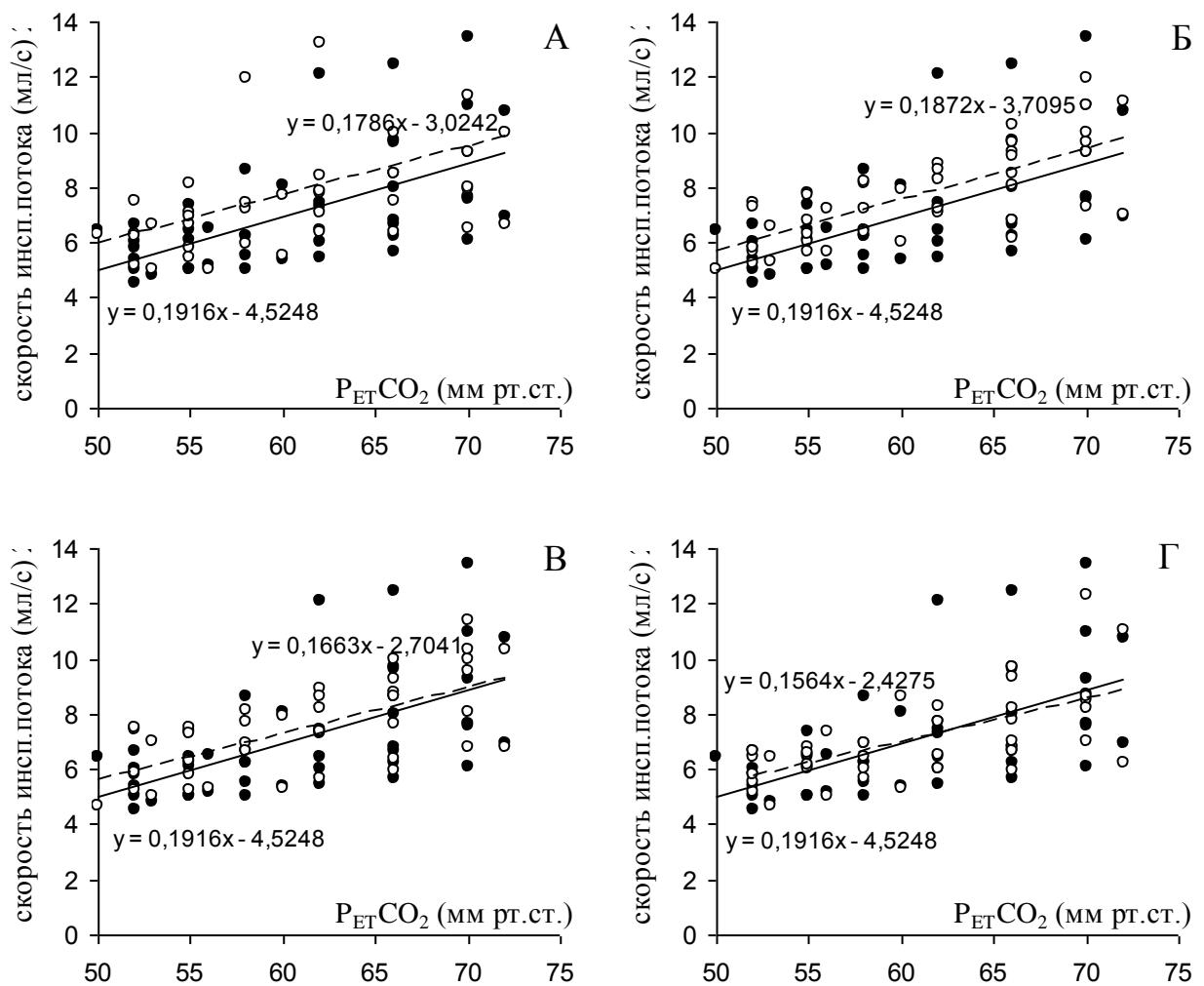


Рис. 6.3. Зависимость дыхательного объема от величины гиперкапнического стимула до (сплошная линия) и после (штриховая линия) интравентрикулярного введения ИЛ-1 β на фоне действия диклофенака.

Остальные обозначения как на рис. 6.2.



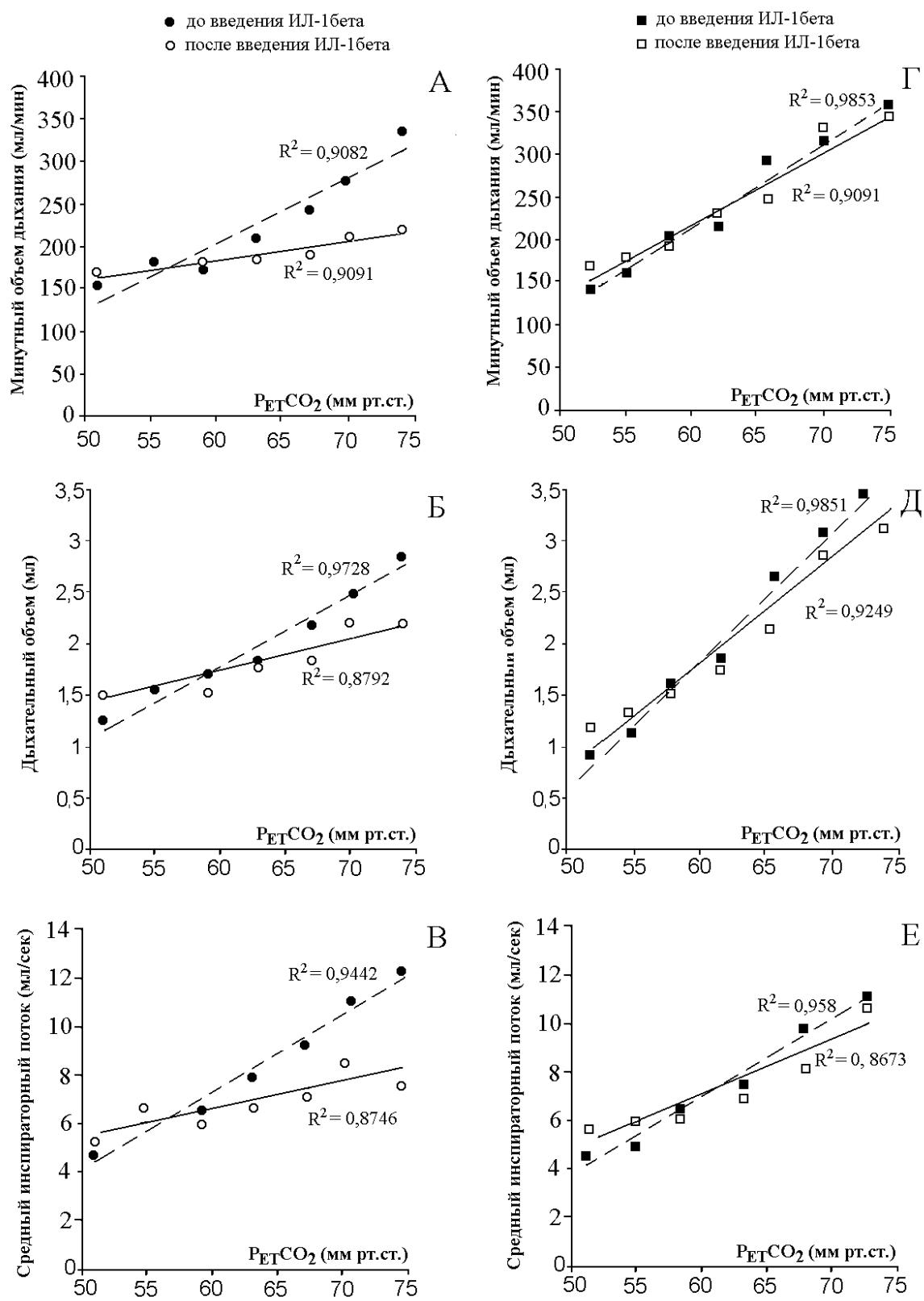


Рис. 6.5. Сравнение результатов полученных в двух конкретных экспериментах при церебровентрикулярном введении ИЛ-1 β : А, Б, В – через 40 минут после введения ИЛ-1 β ; Г, Д, Е – через 40 минут после введения ИЛ-1 β на фоне действия диклофенака. Пунктирная линия – до введения ИЛ-1 β , сплошная – после введения ИЛ-1 β . R^2 – величина достоверности аппроксимации.

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. То же самое относится к приростам ДО и средней скорости инспираторного потока (рис. 6.6). При максимальном снижении вентиляторного ответа через 40 минут после церебровентрикулярного введения ИЛ-1 β в отсутствии диклофенака прирост МОД снижался на 47 %, прирост ДО – на 40 % и прирост средней скорости инспираторного потока (показателя центральной инспираторной активности) – на 38 % по сравнению с контрольными величинами, зарегистрированными до введения препарата.

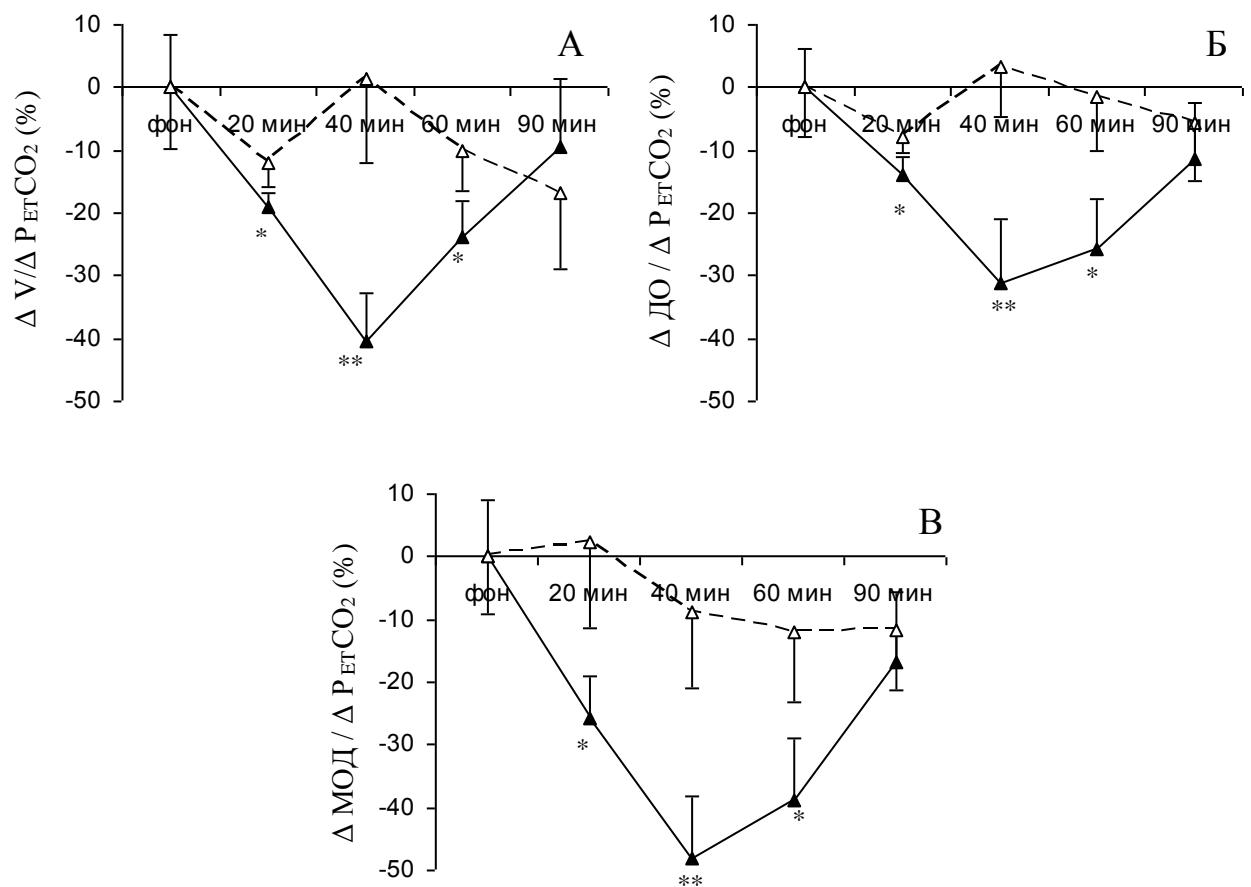


Рис. 6.6. Динамика прироста средней скорости инспираторного потока (А), дыхательного объема (Б), минутного объема дыхания (МОД) (В) при возвратном дыхании гиперкапнической смесью. Сплошная линия при центральном введении интерлейкина, пунктирная линия при центральном введении интерлейкина на фоне действия диклофенака.

По оси абсцисс: время после введения ИЛ-1 β .

* – достоверное отличие от фона $P<0.05$; ** – $P<0.01$.

В противоположность этому, при введении ИЛ-1 β на фоне действия диклофенака прирост средней скорости инспираторного потока вообще не изменялся, прирост ДО даже слегка увеличивался на 5 %, а снижение прироста МОД составляло не более 16 % и не было достоверным ($P = 0,47$) (рис. 6.7).

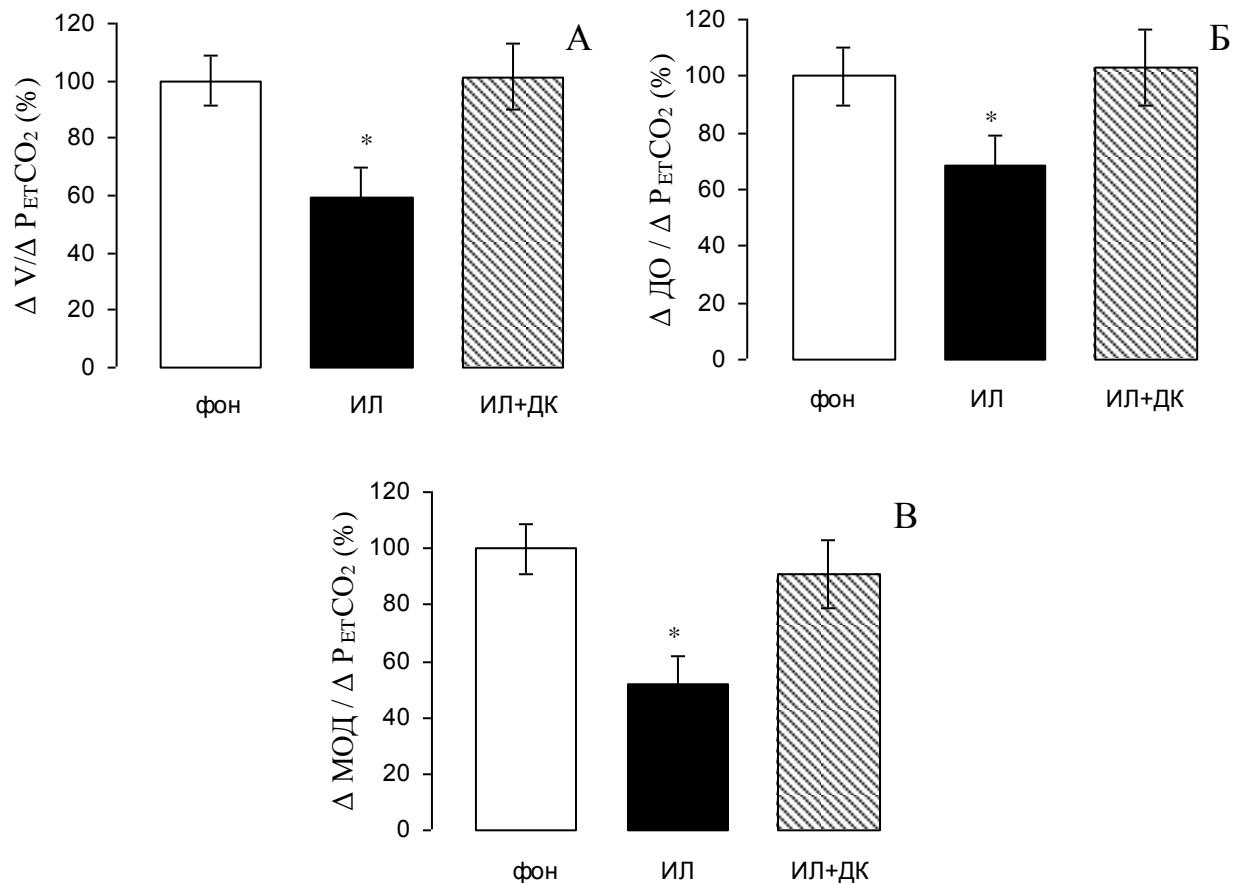


Рис. 6.7. Влияние ИЛ-1 β через 40 минут после его церебровентрикулярного введения на величину прироста средней скорости инспираторного потока (А), дыхательного объема (Б), минутной вентиляции (В) при гиперкапнической стимуляции. Белые столбки – фон, темные столбки – введение ИЛ-1 β , заштрихованные столбки – введение ИЛ-1 β на фоне действия диклофенака. * – достоверное отличие от фона $P < 0,05$.

Таким образом, полученные данные показывают, что на фоне действия диклофенака ингибирующего активность циклооксигеназы, повышение церебрально-гого 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 механизмы центральной хеморецепции.

6.2. Модуляция вентиляторного ответа на гипоксию интерлейкином-1 β при ингибировании циклооксигеназной активности

Как было показано в предыдущей главе диссертации, стойкое снижение вентиляторной чувствительности к гипоксии наблюдается при повышении как церебрального, так и системного уровня IL-1 β . Поэтому для выяснения возможного участия циклооксигеназных механизмов в реализации депрессивного влияния IL-1 β на вентиляторную чувствительность к гипоксии использовалось сочетание интраперитониального введения диклофенака как с церебровентрикулярным, так и внутривенным введением IL-1 β .

6.2.1. Вентиляторный ответ на гипоксию при повышении церебрального уровня IL-1 β на фоне действия диклофенака

Церебровентрикулярное введение IL-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 (рис. 6.8, 6.9, 6.10). Приросты МОД, ДО и Винс в ответ на снижение $P_{ET}O_2$ на 1 мм рт. ст. после введения ИЛ-1 β на фоне диклофенака достоверно не отличается от приростов этих параметров зарегистрированных в контроле, т.е. до введения препаратов (рис. 6.11). Диклофенак полностью устранил влияние церебровентрикулярных инфузий IL-1 β на параметры вентиляторного гипоксического ответа. При действии диклофенака оно не проявлялось даже через 90 минут после введения IL-1 β , т.е. в тот период, когда его депрессивное влияние на гипоксический ответ было выражено максимально (рис. 6.12).

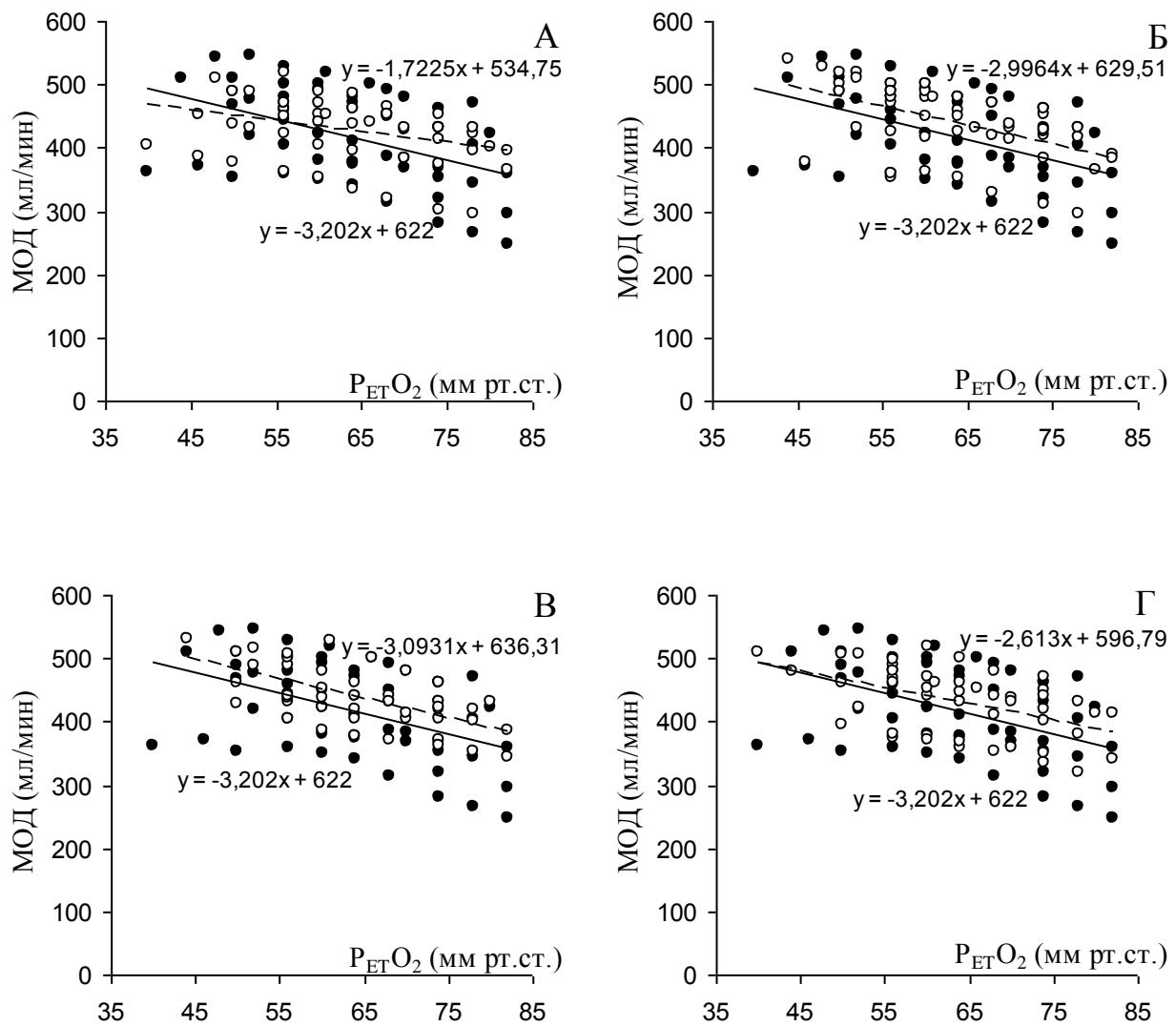


Рис. 6.8. Зависимость минутного объема дыхания от величины гипоксического стимула через 20, 40, 60 и 90 минут (А, Б, В, Г соответственно) после церебровентрикулярного введения ИЛ-1 β на фоне действия диклофенака.

Сплошная линия – до введения веществ, штриховая линия – после введения препаратов.

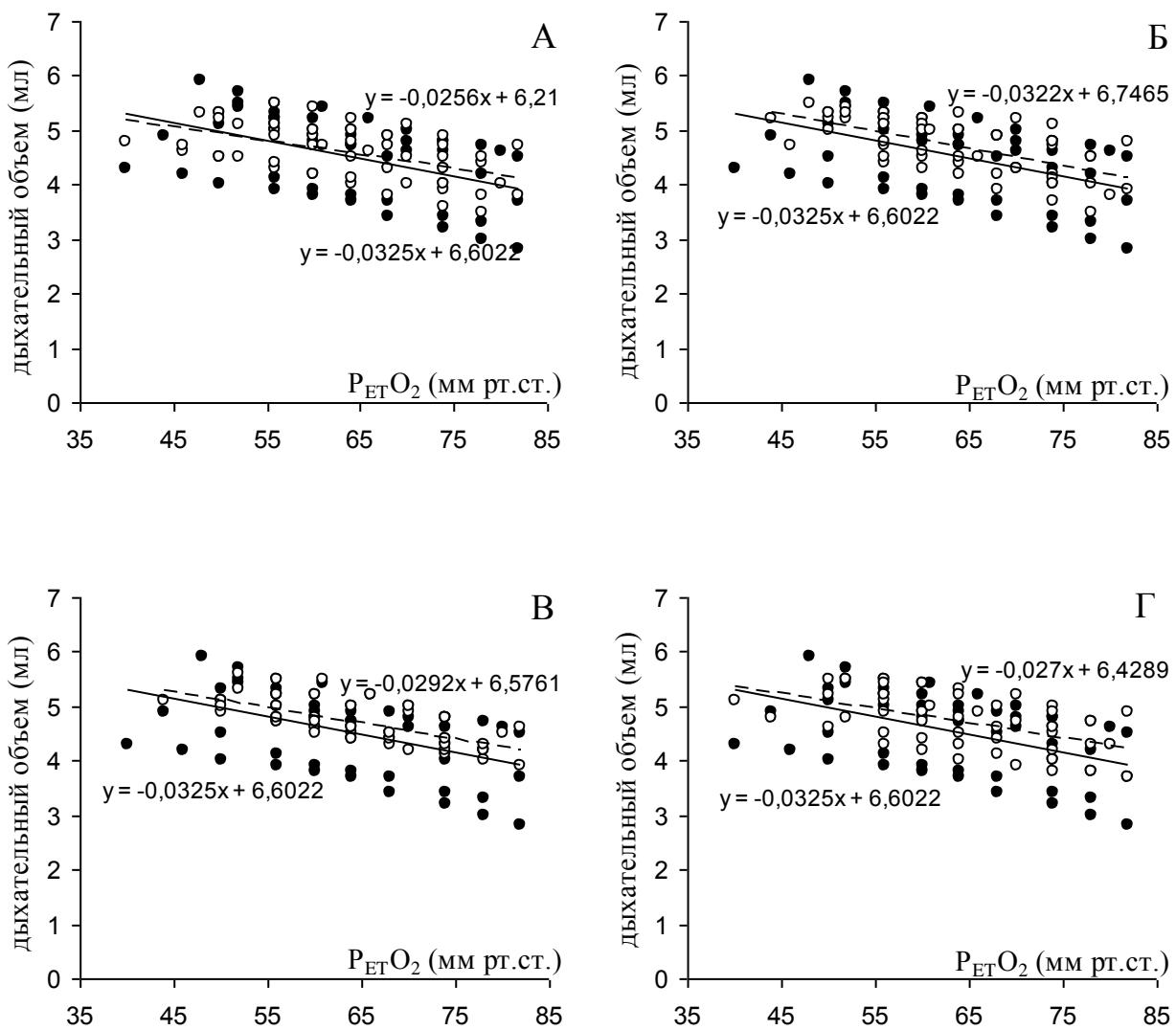


Рис. 6.9. Зависимость дыхательного объема от величины гипоксического стимула через 20, 40, 60 и 90 минут (А, Б, В, Г соответственно) после церебровен-трикулярного введения ИЛ-1 β на фоне действия диклофенака.

Сплошная линия – до введения веществ, штриховая линия – после введения препаратов.

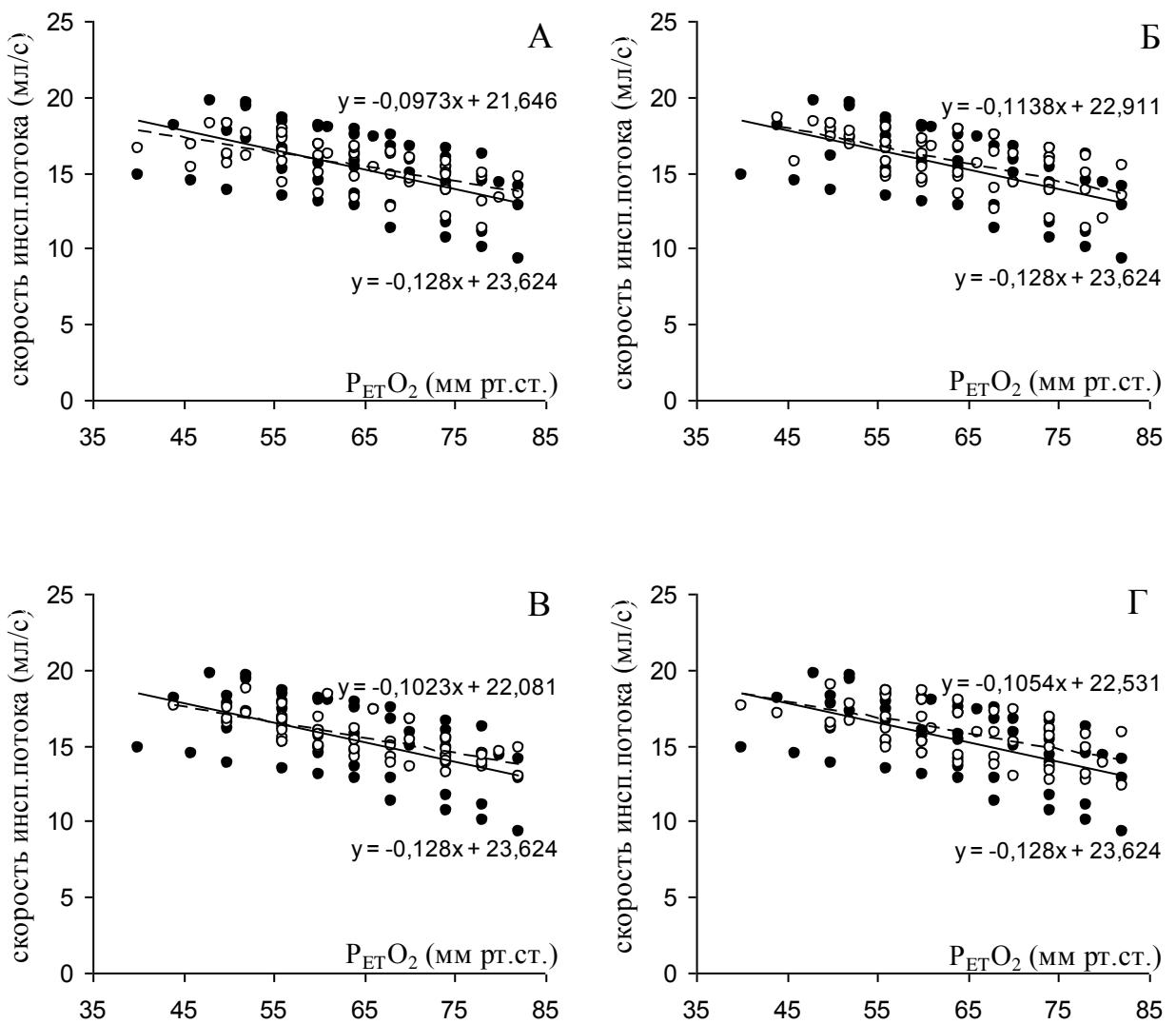


Рис. 6.10. Зависимость средней скорости инспираторного потока от величины гипоксического стимула через 20, 40, 60 и 90 минут (А, Б, В, Г соответственно) после церебровентрикулярного введения ИЛ-1 β на фоне действия диклофенака.

Сплошная линия – до введения веществ, штриховая линия – после введения препаратов.

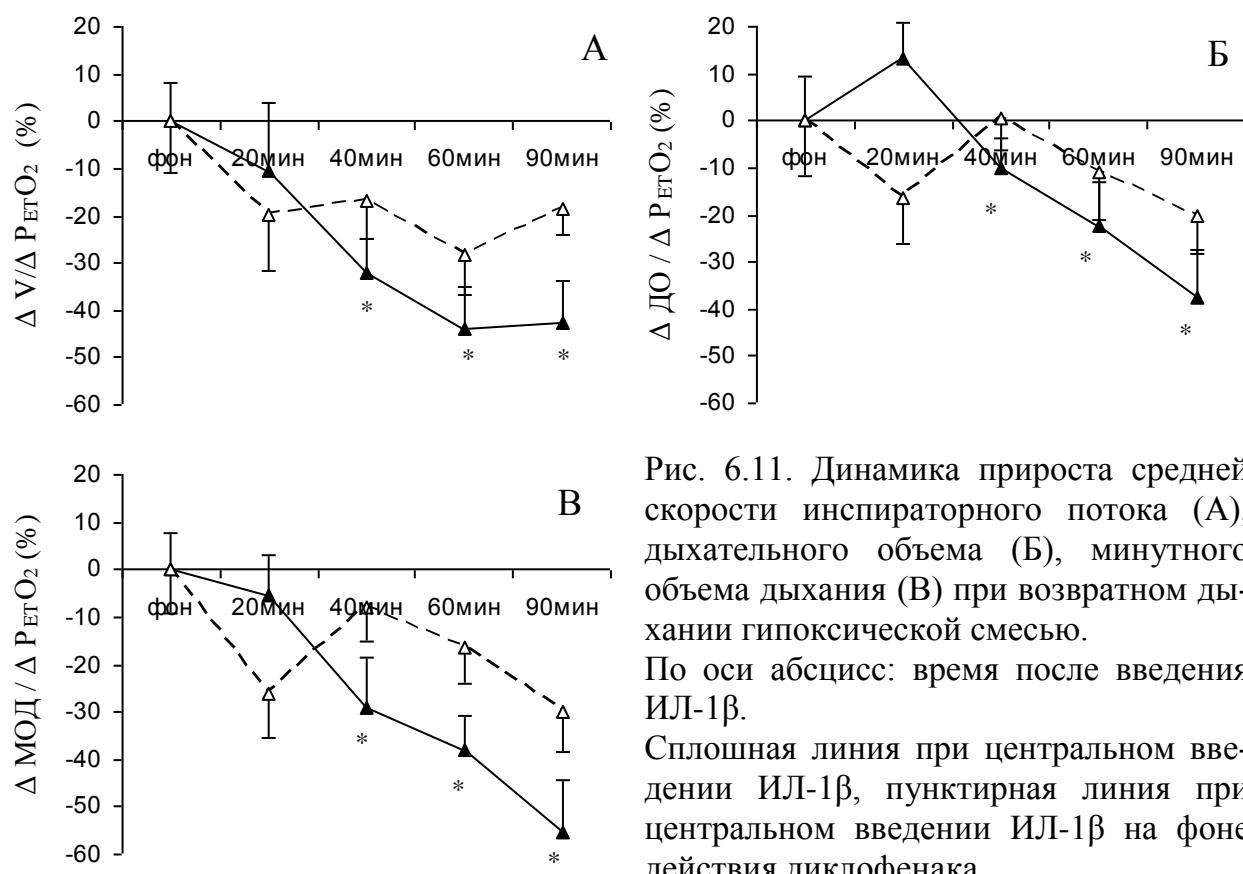


Рис. 6.11. Динамика прироста средней скорости инспираторного потока (А), дыхательного объема (Б), минутного объема дыхания (В) при возвратном дыхании гипоксической смесью.
По оси абсцисс: время после введения ИЛ-1 β .
Сплошная линия при центральном введении ИЛ-1 β , пунктирная линия при центральном введении ИЛ-1 β на фоне действия диклофенака.
*—достоверные отличия от фона, Р<0.05.

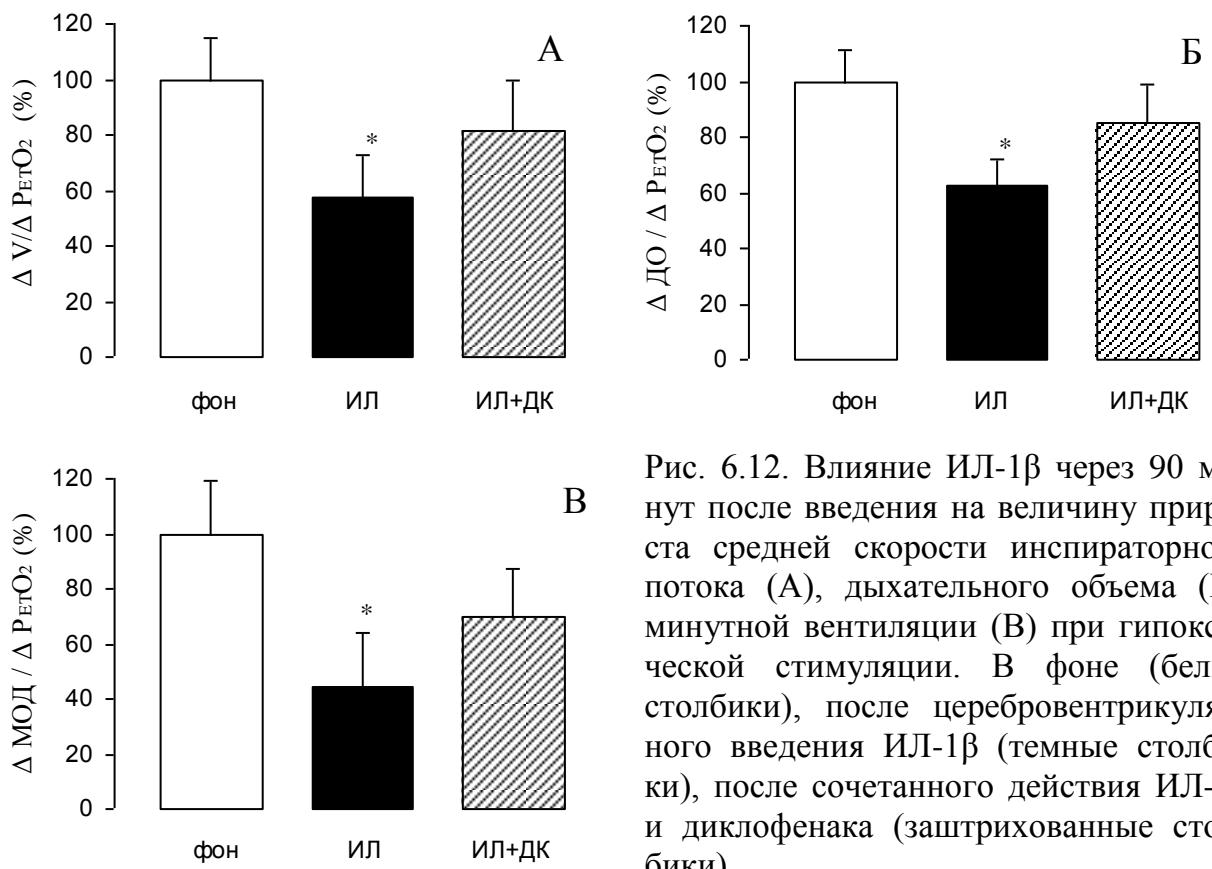


Рис. 6.12. Влияние ИЛ-1 β через 90 минут после введения на величину прироста средней скорости инспираторного потока (А), дыхательного объема (Б), минутной вентиляции (В) при гипоксической стимуляции. В фоне (белые столбики), после церебровентрикулярного введения ИЛ-1 β (темные столбики), после сочетанного действия ИЛ-1 β и диклофенака (заштрихованные столбики).
*—достоверное отличие от фона, Р<0.05.

Полученные данные указывают на то, что при ингибиции циклооксигеназной активности повышение церебрального уровня IL-1 β не оказывает какого-либо влияния на вентиляторную чувствительность к гипоксии.

6.2.2. Вентиляторный ответ на гипоксию при повышении системного уровня IL-1 β на фоне действия диклофенака

Внутривенное введение IL-1 β в сочетании с внутрибрюшинным введением диклофенака полностью устранило влияние IL-1 β на зависимость центральной инспираторной активности от интенсивности гипоксического стимула (рис. 6.13). Данная зависимость для величины МОД и ДО имела слабо выраженную тенденцию к уменьшению: наблюдалось небольшое изменение наклона линии тренда (рис. 6.14, 6.15). Однако при этом не удалось выявить характерного для действия IL-1 β достоверного уменьшения в приростах МОД, ДО и Винс в ответ на усиление гипоксического стимула (рис. 6.16). Прирост Винс, отражающей величину центральной инспираторной активности не снижался ниже фоновых величин на протяжении всего эксперимента. Отмечалась незначительная тенденция к снижению прироста МОД и ДО начиная с 40 минуты, однако это снижение не было статистически достоверным и не превышало 16%, тогда как в отсутствие диклофенака внутривенное введение IL-1 β вызывало достоверное снижение прироста этих параметров: через 90 минут действия IL-1 β МОД снижался на 56 % а ДО – на 30%.

Полученные данные свидетельствуют об ослаблении влияния повышенного системного уровня IL-1 β на вентиляторную чувствительность к гипоксии при действии диклофенака.

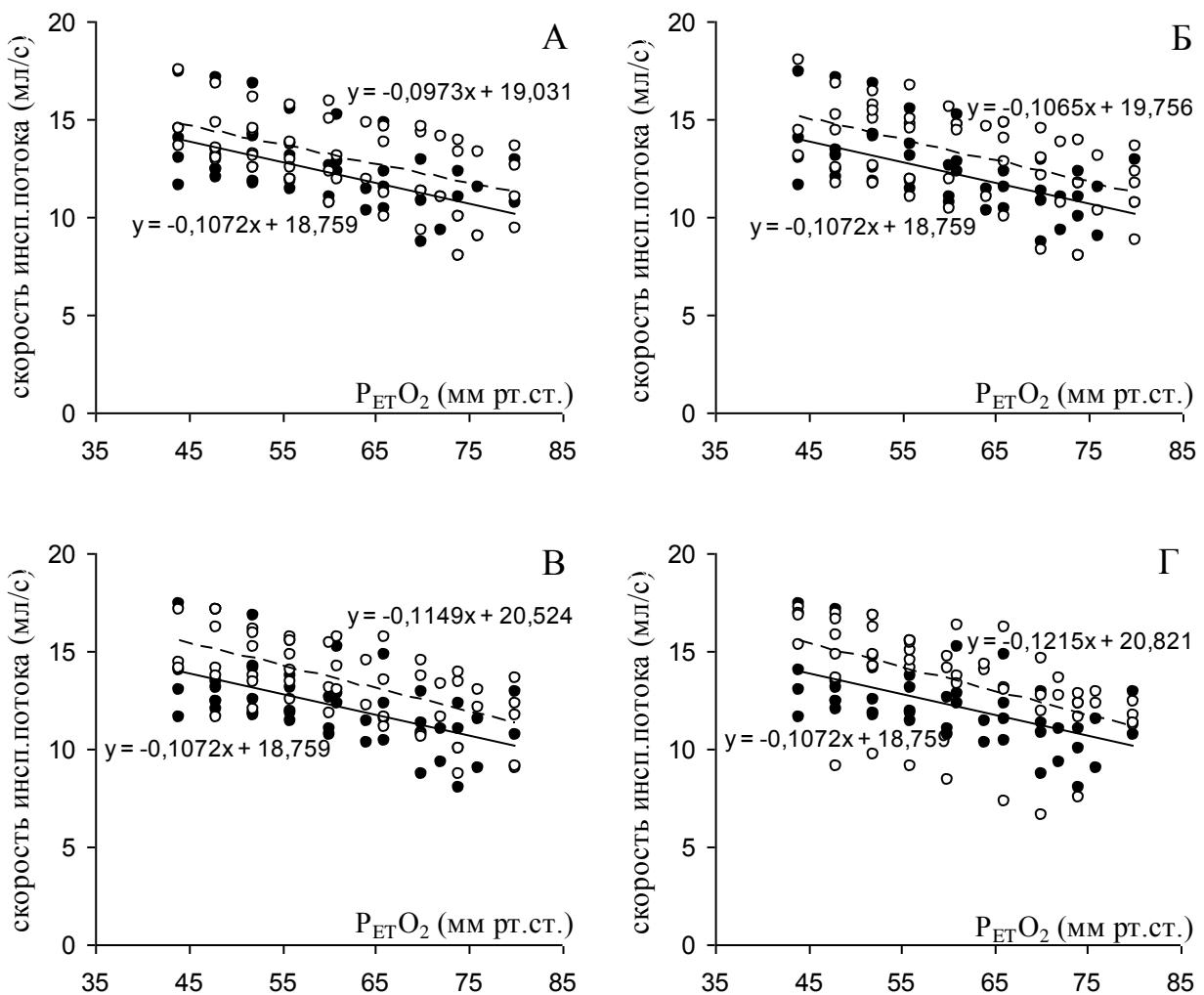


Рис. 6.13. Зависимость средней скорости инспираторного потока от величины гипоксического стимула через 20, 40, 60 и 90 минут (А, Б, В, Г соответственно) после внутривенного введения ИЛ-1 β на фоне действия диклофенака.
Сплошная линия – до введения веществ, штриховая линия – после введения препаратов.

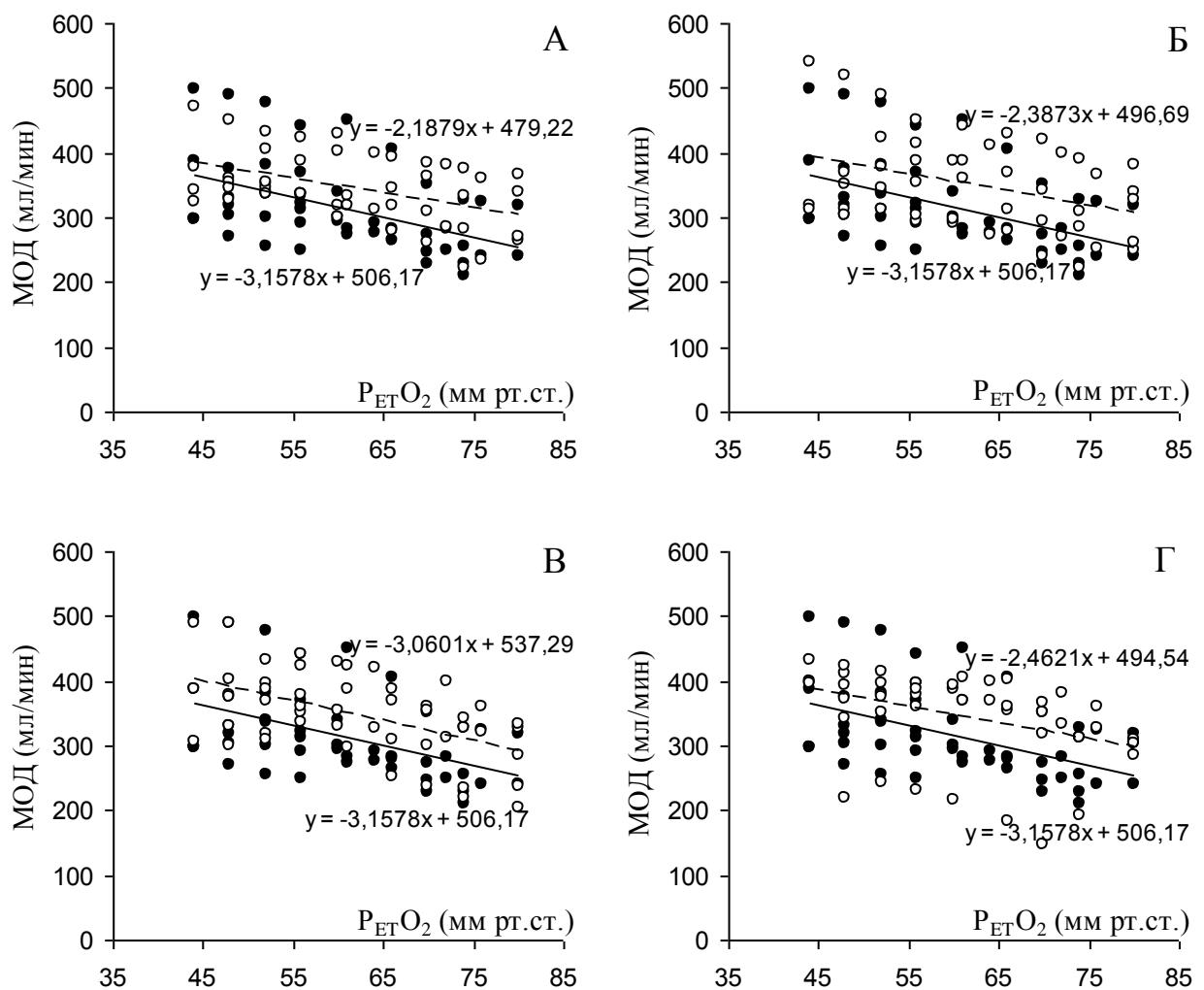


Рис. 6.14. Зависимость минутного объема дыхания от величины гипоксического стимула через 20, 40, 60 и 90 минут (А, Б, В, Г соответственно) после внутривенного введения ИЛ-1 β на фоне действия диклофенака.
Сплошная линия – до введения веществ, штриховая линия – после введения препаратов.

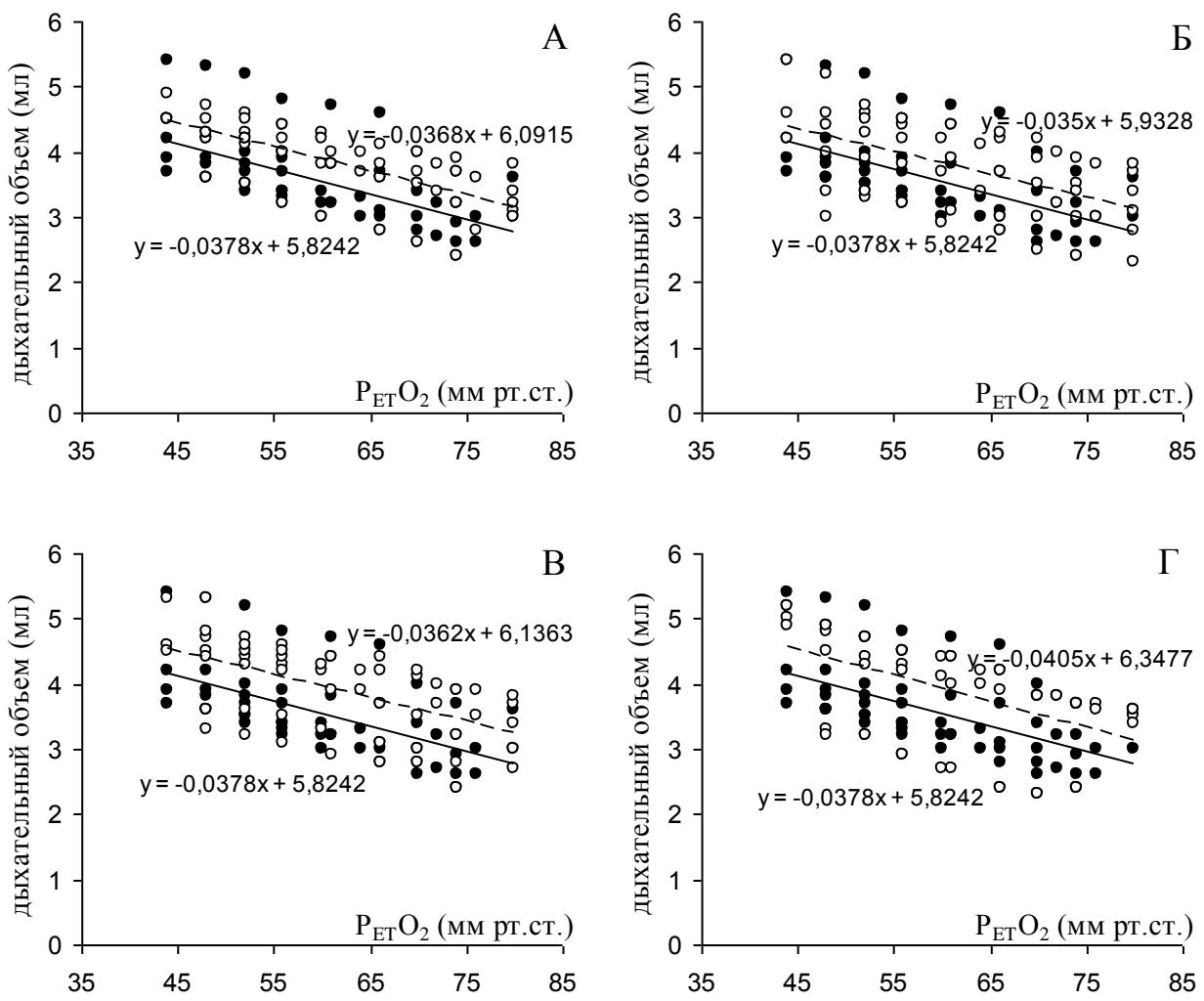


Рис. 6.15. Зависимости дыхательного объема от величины гипоксического стимула через 20, 40, 60 и 90 минут (А, Б, В, Г соответственно) после внутривенного введения ИЛ-1 β на фоне действия диклофенака.
Сплошная линия – до введения веществ, штриховая линия – после введения препаратов.

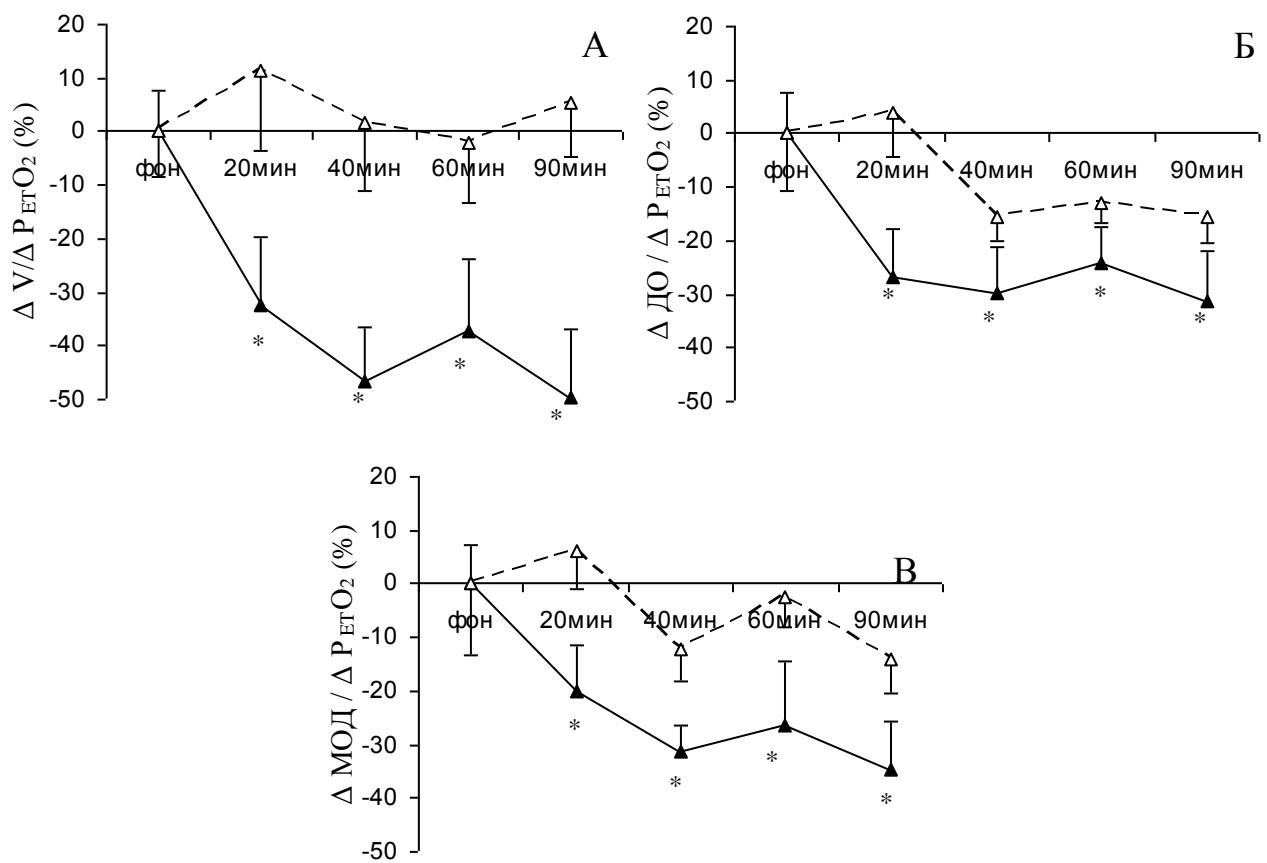


Рис. 6.16 Влияние диклофенака на модуляцию параметров гипоксического вентиляторного ответа вызванную системным введением ИЛ-1 β .

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

По оси абсцисс: время после введения ИЛ-1 β .

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

* – достоверные отличия от фона, Р<0.05.

6.3. Обсуждение полученных результатов.

Таким образом, результаты экспериментов с церебровентрикулярным и внутривенным введением ИЛ-1 β на фоне действия диклофенака показали, что данный препарат устраняет модулирующее влияние ИЛ-1 β на вентиляторную чувствительность к гипоксии и гиперкапнии. Как известно, ИЛ-1 β взаимодействуя с рецептором интерлейкина-1 (ИЛ-1R1), индуцирует активность COX-2 и микросомальной синтазы-1 простагландин-Е (mPGES-1). COX-2 катализирует образование простагландин-Н₂ (PGH₂) из арахидоновой кислоты, а mPGES-1 катализирует

синтез простагландина Е₂ (PGE₂) из PGH₂. Диклофенак является препаратом, угнетающим ферментативную активность циклооксигеназы. Это нарушает метаболизм арахидоновой кислоты и как следствие угнетает синтез простагландинов. Поэтому отсутствие влияния ИЛ-1β на вентиляторный гипоксический и гиперкапнический ответ на фоне действия диклофенака позволяет сделать вывод о том, что одним из основных механизмов реализации обнаруженных респираторных эффектов ИЛ-1β, основного провоспалительного цитокина, является синтез PGE₂.

Вывод о том, что ИЛ-1β действует на механизмы регуляции дыхания не прямо, а опосредованно подтверждается экспериментальными данными других авторов. Так, например, было показано, что системное введение ИЛ-1β индуцирует экспрессию среднераннего гена c-fos, в ряде структур головного мозга, в том числе в ядре одиночного тракта, в латеральных парабрахиальных ядрах, в вентролатеральном отделе продолговатого мозга, т.е. в тех областях, где расположены дыхательные нейроны (Ericsson et al., 1994). При этом анализ распределения мРНК, кодирующей белок рецептора ИЛ-1 первого типа (IL-1R1) проведенный этими же исследователями не обнаружил мРНК IL-1R1 среди тех нейронов, которые отвечали на внутривенное введение ИЛ-1β индукцией транскрипционного фактора fos (Ericsson et al., 1995). Следовательно, нейроны, отвечающие на цитокиновый сигнал, не имели соответствующих рецепторов. Более того, в одной из работ было показано, что прямое действие ИЛ-1β на структуры мозгового ствола *in vitro* не изменяет респираторно-зависимую нейрональную активность этого отдела мозга (Olsson et al., 2003). Эти данные доказывают, что действие ИЛ-1β на центральные механизмы регуляции дыхания не может реализовываться через прямое влияние ИЛ-1β на респираторные нейроны. Необходимы посредники, участвующие в передаче цитокинового сигнала.

Механизмы, которые активируются ИЛ-1β и опосредуют его биологические эффекты, являются комплексными и до конца не изученными. Предполагается, что влияние ИЛ-1β на физиологические функции опосредуются множественными путями. Он может действовать через высвобождение простаноидов, норэpineфрина, кортикотропинрилизинг фактора и оксида азота (Berkenbosch et al., 1989; Bataillard, Sassard, 1994; Watanabe et al., 1996; Nakamori et al., 1993; Graff, Gozal, 1999). При этом в реализации респираторных влияний ИЛ-1β по-видимому в

большой степени участвуют NO- и простаноид-зависимые механизмы. В работе Graff и Gozal (1999) показано, что действие L-NAME (ингибитора NO-синтазы) уменьшает и кардиоваскулярный (подъем давления и увеличение частоты сердечных сокращений), и вентиляторный (увеличение вентиляции) ответ на системное введение ИЛ-1 β . Индометацин (ингибитор циклооксигеназы) модулирует вентиляторный ответ на ИЛ-1 β , но не влияет на кардиоваскулярный ответ, тогда как дексаметазон вообще не влияет ни на кардиоваскулярный, ни на вентиляторный ответ вызванный ИЛ-1 β , доказывая тем самым, что глюкокортикоиды не участвуют в реализации этих эффектов ИЛ-1 β (Graff, Gozal, 1999).

Таким образом, индукция PGE₂, является, по-видимому, одним из основных, специфических механизмов, посредством которого ИЛ-1 β может влиять на функцию нейронов, в том числе и респираторных нейронов. Это доказывают данные современных исследований. В экспериментах на культуре клеток тройничного ганглия крысы иммуноцитохимическим методом показано, что стимуляция интерлейкином-1 β вызывает индукцию COX-2 и высвобождение PGE₂ в нейрональных и глиальных клетках ганглия. При этом высвободившийся PGE₂ в свою очередь активирует тригеминальные нейроны. Установлена зависимость этого эффекта от дозы ИЛ-1 β и от времени его действия. (Neeb et al., 2011). Результаты нашего исследования, показывающие практически полное исчезновение модуляции хеморецепторных ответов интерлейкином-1 β на фоне диклофенака, позволяют предположить аналогичный механизм и для влияния ИЛ-1 β на респираторные нейроны. Цепочку событий происходящих после повышения церебрального и системного уровня ИЛ-1 β можно описать следующим образом. Церебровентрикулярное введение ИЛ-1 β вызывает индукцию COX-2 клеточными элементами мозга, имеющими рецепторы к ИЛ-1. Это могут быть и глиальные, и нервные клетки. Системное введение ИЛ-1 β способствует индукции COX-2 эндотелием церебральных сосудов, имеющим большое количество рецепторов ИЛ-1. В результате и в первом и во втором случае усиливается синтез PGE₂, которые высвобождаются в межклеточное пространство и оказывают действие на нейроны, и в частности на респираторные нейроны, имеющие рецепторы к PGE₂. Это так называемые EP3 рецепторы, высокий уровень экспрессии которых обнаруживается в области ядра одиночного тракта, амбигуального ядра,

парабрахиальных ядер, т.е. в респираторно-зависимых областях мозгового ствола. В соответствии с современными данными простагландини рассматриваются как один из тормозных модуляторов вносящих вклад в респираторную депрессию (Ballanyi et al., 1999). В наших экспериментах PGE₂ по-видимому оказывал тормозное влияние на хеморецепторные нейроны (центральные хеморецепторы) и/или на респираторные нейроны, участвующие в передаче афферентных сигналов от центральных и периферических хеморецепторов на α-инспираторные нейроны (Iα). Кроме того, при системном введении не исключается и возможность торможения PGE₂ гломусных клеток каротидного тела, т.к. показано, что PGE₂ тормозит гипоксически индуцированное высвобождение катехоламина из клеток 1 типа, которое является маркером деполяризации (Gomes-Nino et al., 1994). В любом случае при усилении продукции простагландинов нейроны Iα будут активироваться хемостимулом в меньшей степени, чем в обычных условиях. В результате уменьшается вентиляторная реакция на гиперкапнию и гипоксию, т.к. эти нервные клетки являются бульбоспинальными премоторными нейронами, участвующими в формировании центральной инспираторной активности (ЦИА) и передающие ее на мотонейроны дыхательных мышц.

Принципиальная способность простагландинов оказывать влияние на функцию внешнего дыхания имеет экспериментальные доказательства. При введении крысам в правый латеральный желудочек 2 микрограммов PGE₂, через 30 мин после введения обнаруживается сильный положительный сигнал мРНК кодирующей ранний ген c-fos в нейронах ядра одиночного тракта, в моторном ядре вагуса, в дорсальном отделе амбикуального ядра (Lacroix, Vallieres et al., 1996). Эти данные обеспечивают анатомическое доказательство того, что центральная инъекция PGE₂ вызывает специфическую и селективную экспрессию c-fos в тех структурах мозга, которые участвуют в регуляции дыхания. В наших экспериментах ослабление ответов на гиперкапнию и гипоксию при повышении церебрального уровня ИЛ-1β проявлялось также через 30-40 минут после его интравентрикулярного введения.

Участие PGE₂ как посредника ИЛ-1β в модуляции хеморецепторных механизмов регуляции дыхания выявлено у новорожденных животных. На препаратах продолговатого мозга новорожденных крысят при отведении респираторной активности от спинномозгового корешка С4 было показано, что ИЛ-1β не оказывает

прямого действия на респираторные нейроны мозгового ствола, тогда как PGE₂ вызывает торможение их активности (Olsson et al., 2003). В тоже время исследования *in vivo*, проведенные в этой же работе, показали, что интраперитониальное введение ИЛ-1 β (10 $\mu\text{g}/\text{kg}$) угнетало дыхание у новорожденных крысят и ухудшало восстановление дыхания после аноксии, увеличивая количество эпизодов с летальным исходом, тогда как индометацин снимал эти эффекты интерлейкина. Эти данные указывают на то, что ИЛ-1 β не тормозит респираторные нейроны прямо, но может угнетать дыхание и гипоксическую устойчивость через простагландин-зависимые механизмы. Предполагается, что простагландин E₂ может быть ключевым регулятором респираторных ответов на инфекцию и гипоксию у новорожденных (Olsson et al., 2003; Hofstetter et al., 2007). Результаты нашего исследования существенно дополняют эти данные, т.к. они прямо указывают на участие простагландинов, как передатчиков цитокинового сигнала, в модуляции хеморецепторных ответов у взрослых животных с уже сформированной центральной респираторной сетью нейронов, причем не только на гипоксический, но и на гиперкапнический стимул.

* * *

Таким образом, результаты проведенного исследования соответствуют современным литературным данным и позволяют сделать следующие выводы:

1. Повышение церебрального уровня ИЛ-1 β на фоне действия диклофенака, ингибирующего активность циклооксигеназы, не изменяет вентиляторный ответ на гиперкапнию.
2. Повышение церебрального и системного уровня IL-1 β в сочетании с ингибированием циклооксигеназной активности не оказывает влияния на вентиляторную чувствительность к гипоксии.
3. В основе модулирующих влияний провоспалительных цитокинов на хеморецепторные механизмы регуляции дыхания лежит увеличение синтеза простагландинов, вызванное усилиением циклооксигеназной активности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование роли цитокинов, медиаторов иммунной системы, в модуляции центральных механизмов регуляции респираторной функции является новым направлением в области физиологии дыхания. Анализ современной литературы позволяет обнаружить довольно большое количество работ, в которых исследуется роль провоспалительных цитокинов в регуляции различных системных функций - пищевого поведения, фаз сна, терморегуляции. Влияние же повышенной экспрессии цитокинов на функцию дыхания исследовано очень слабо.

Согласно классическим представлениям цитокины участвуют в регулировании иммунных и воспалительных процессов. Вместе с тем экспрессия этих полипептидов и их рецепторов обнаружена в клетках центральной нервной системы (Степаничев, 2005; Кетлинский, Симбирцев, 2008). 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, в том числе и на регуляцию респираторной функции, тем более, 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). Вместе с тем в настоящее время очень мало прямых экспериментальных данных указывающих на участие провоспалительных цитокинов в контроле респираторной функции.

Одна из первых немногочисленных работ имеющая отношение к этой проблематике была опубликована Graff и Gozal в 1999 году. В ней было показано, что системное введение ИЛ-1 β вызывает ответы со стороны кардиореспираторной системы, которые не совпадают по времени с пирогенным эффектом ИЛ-1 β и могут быть опосредованы NO- и эйкасаноид- зависимыми механизмами. Позднее было установлено, что системное введение эндотоксина, способствующего высвобож-

дению провоспалительных цитокинов, здоровым испытуемым вызывает увеличение частоты дыхания, скорости инспираторного потока, минутной вентиляции легких, усиливает моторный выход дыхательной системы (Preas et al., 2001). Результаты нашего исследования соответствуют этим данным и подтверждают правильность выводов об активирующем влиянии провоспалительных цитокинов на центральный механизм регуляции паттерна дыхания. 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 одновременно обладают угнетающим действием на хеморефлекторную регуляцию дыхания, вызывая снижение вентиляторной чувствительности к гиперкапнии и гипоксии.

Следует отметить, что результаты этой части нашего исследования имеют высокую степень новизны, так как прямые экспериментальные данные, указывающие на угнетение провоспалительными цитокинами хеморецепторных механизмов регуляции дыхания, в современной литературе практически отсутствуют. Вместе с тем, правильность наших выводов подтверждается некоторыми опосредованными данными. Так, в исследовании проведенном на мышах с мышечной дистрофией, которые имеют сниженный вентиляторный ответ на гиперкапнию ($7\% \text{ CO}_2$) по сравнению с нормальными мышами, было показано, что конкурентное устранение провоспалительного цитокина TNF- α (посредством удаления гена для TNF- α) значительно улучшает вентиляторный ответ на гиперкапнию (Gosselin et al., 2003). Снижение вентиляторной чувствительности к недостатку кислорода под действием ИЛ-1 β предполагается в работе, проведенной на новорожденных крысятах (Hofstetter, Herlenius, 2005). Животные, которым интраперитониально вводился ИЛ-1 β , имели меньшую вентиляторную реакцию на аноксию и не могли поддерживать судорожные вдохи, вызванные аноксией так долго как контрольные животные. Кроме того, исследования последних лет показали, что основные провоспалительные цитокины (IL-1 β TNF- α IL-6) и их рецепторы экспрессируются в гломусных клетках каротидного тела (Wang et al., 2006; Zhang et al., 2007; Fernandez et al., 2011). Поэтому экзогенное введение IL-1 β и TNF- α стимулирует гло-

мусные клетки и увеличивает частоту разрядов синусного нерва иннервирующего каротидное тело (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 экзогенном введении ИЛ-1 β : увеличение центральной инспираторной активности и вентиляции легких при одновременном снижении вентиляторной чувствительности к гипоксии.

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о том, что увеличение продукции провоспалительных цитокинов оказывает негативное влияние на систему внешнего дыхания, т.к. ослабление вентиляторной чувствительности к изменению газового состава крови вызывает снижение резервных возможностей дыхательной системы. Это может происходить, например, при развитии системного ответа на воспаление, при травме головного мозга, инсультах, ишемии и других состояниях, которые сопровождаются резким повышением уровня провоспалительных цитокинов в организме. Результаты проведенного исследования указывают также на то, что действие провоспалительных цитокинов может быть причиной снижения вентиляторного ответа на гиперкапнию у больных хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) при которой наблюдается эндогенное повышение системного уровня провоспалительных цитокинов. Кроме того, полученные нами данные поддерживают точку зрения, согласно которой инфекция может играть критическую роль в апноэ младенцев и синдроме внезапной детской смерти (Guntheroth, 1989), причем ИЛ-1 β может выступать в качестве ключевого медиатора между этими событиями. Неизбежное увеличение содержания ИЛ-1 β в организме новорожденных при инфекционных заражениях может явиться причиной внезапной остановки дыхания вследствие снижения вентиляторной чувствительности к основному стимулу дыхания – углекислому газу. Тем более, что в соответствии с некоторыми данными основным патофизиологическим механизмом синдрома внезапной детской смерти является незрелость центральных хеморецепторных нейронов и ослабление вследствие этого реакции на

гиперкапнический стимул. Повышение уровня ИЛ-1 β будет усиливать действие этого фактора.

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 COX 1 и 2. Учитывая полученные нами экспериментальные данные и результаты гистохимических исследований показывающие, что PGE₂ в большом количестве экспрессируются в области ДРГ 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 предполагать, 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 COX 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 (EP3) расположенными на других близлежащих 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 (Ia). В результате уменьшалась вентиляторная реакция на гиперкапнию и гипоксию, т.к. эти

нервные клетки являются бульбоспинальными премоторными нейронами, участвующими в формировании ЦИА и передающие ее на мотонейроны дыхательных мышц. При системном введении ИЛ-1 β 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 ингибиорования циклооксигеназной активности диклофенаком не оказывает влияния на вентиляторную чувствительность ни к гипоксии, ни к гиперкапнии, свидетельствуя о том, что в основе модулирующих влияний провоспалительных цитокинов на хеморецепторные механизмы регуляции дыхания лежит усиление синтеза простагландинов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.

1. Аганезова Е.С. Газы и кислотно-щелочное состояние крови // Руководство по клинической физиологии дыхания. Л., 1980. С. 182-233.
2. Александрова Н.П., Меркульев 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. Выпуск 16. №37. С. 7-11.
3. Ардашникова Л.И. Об участии артериальных и тканевых рецепторов в регуляции дыхания при гипоксии // Кислородный режим и его регулирование. Киев, 1966. С. 87-97.
4. Ардашникова Л.И., Шик Л.Л. О механизмах действия острой гипоксии на дыхание // В кн.: К регуляции дыхания и кровообращения и газообмена. М., 1948. С. 25-31.
5. Атьков О.Ю., Бедненко В.С. Гипокинезия, невесомость: клинические и физиологические аспекты. М.: Наука, 1989. 304 с.
6. Бреслав И.С. Паттерны дыхания: Физиология, экстремальные состояния, патология. Л.: Наука, 1984. 206 с.
7. Бреслав И.С. Рефлекторное влияние на сердце с рецепторов аортильной и синокаротидной зон //Физиология кровообращения. Л., 1980. С. 487-491.
8. Бреслав И.С., Глебовский В.Д. Регуляция дыхания. Л.: Наука, 1981. 280 с.
9. Бреслав И.С., Жиронкин А.Г., Салазкин В.Н. Шмелева А.М. Математический анализ реакций дыхательной системы человека на гипоксию и гиперкапнию//Физиол. журн. СССР. 1972. Т. 58. С. 1749-1755.
10. Бреслав И.С., Конза Э.А. Восстановление хеморецепторной функции после деафферентации синокаротидных зон у крыс // Физиол. журн. СССР. 1975. Т. 61. С. 84-89.
11. Бреслав И.С., Ноздрачев А.Д. Дыхание. Висцеральный и поведенческий аспекты. СПб.: Наука, 2005. 309 с.

12. Бреслав И.С., Пятин В.Ф. Центральная и периферическая хеморецепция системы дыхания // Физиология дыхания. СПб., 1994. С. 416-472.
13. Воробьев А.А., Быков А.С., Караулов А.В. (ред). Иммунология и аллергология. Москва: Практическая медицина, 2006. 288 с.
14. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. М.: Медицина, 2001. 328с.
15. Жаров И.А., Демихов В.Г., Новиков А.В. Рекомбинантный интерлейкин (беталейкин) в комплексной терапии неонатального сепсиса // Цитокины и воспаление. 2008. Т. 7. № 4. С. 63-66.
16. Инюшкин А.Н. Влияние тиролиберина на мембранный потенциал и спонтанную активность и калиевый А-ток нейронов ядра солитарного тракта // Современные проблемы физиологии вегетативных функций. Самара, 2001. С. 17–31.
17. Инюшкин А.Н. Реакция бульбарных дыхательных нейронов на аппликации лейцин-энкефалина и тиролиберина к центральной поверхности продолговатого мозга // Тез.докл.межвуз.конф. «Центральные механизмы дыхания и кровообращения». Самара, 1998. С. 9-11.
18. Инюшкин А.Н., Меркулова Н.А. Дыхательный ритмогенез у млекопитающих: в поисках пейсмекерных нейронов // Регуляция автономных функций. Самара, 1998. С. 23-33.
19. Кедер-Степанова И.А. Нейронная организация дыхательного центра продолговатого мозга: автореферат дисс. ...д-ра. биол. наук. М., 1981. 32 с.
20. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. Спб.: Фолиант, 2008. 552 с.
21. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С., Воробьев А.А. Эндогенные иммуномодуляторы. СПб.: Гиппократ, 1992. 256 с.
22. Клосовский Б.Н., Космарская Е.Н. Деятельное и тормозное состояние мозга. М., 1961.
23. Конза Э.А. Участие артериальных хеморецепторов в регуляции дыхания крысы при гипоксии: автореферат дисс. ... канд. биол. наук. Л., 1972. 24 с.
24. Конза Э.К., Чуйкин А.Е. Установка для регистрации легочной венти-

ляции и газообмена у мелких лабораторных животных // Физиол. журн. СССР. 1983. Т. 69. №4. С. 561-563.

25. Менакер С. Гуморальная и нервная регуляция дыхания // В кн.: Гриппи М.А. Патофизиология легких. – Изд. 2-е, исправ. М.: Издательство Бином, 2008. С. 220-231.

26. Меркулова Н.А., Инюшкин А.Н., Беляков В.И., Зайнулин Р.А., Инюшкина Е.М. Дыхательный центр и регуляция его деятельности супрабульбарными структурами: монография. Самара: Изд-во «Самарский университет», 2007. 170 с.

27. Миславский Н.А. О дыхательном центре // Избранные произведения. М. 1952. С. 21-94.

28. Мюльберг А.А., Гришина Е.В. Цитокины как медиаторы нейроиммунных взаимодействий // Успехи физиологических наук. 2006. Т. 37. № 1. С 18.

29. Ноздрачев А.Д., Поляков Е.Л. Анатомия крысы. (Лабораторные животные). СПб. 2001. 464 с.

30. Песков Б.Я., Пятин В.Ф. Структурно-функциональные механизмы бульбарной хемочувствительности дыхания // Физиол. журн. СССР. 1988. Т. 34. С. 104-112.

31. Пятин В.Ф. Реакции нейронов дыхательного центра на локальную перфузию центральных хеморецептивных зон спинномозговой жидкостью с измененным Ph // В кн.: Актуальные вопросы регуляции дыхания. Куйбышев, 1979. С. 19-22.

32. Пятин В.Ф., Никитин О.Л. Генерация дыхательного ритма. Самара, 1998. 96 с.

33. Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д. Иммунология. М., 2000. 582 с.

34. Самойлов В.О. Гетерогенность хемосенсорных систем. Л., 1983. 224 с.

35. Самойлов В.О. Некоторые проблемы каротидной хеморецепции // В кн.: Сенсорные системы. Л., 1977. С. 76-103

36. Сафонов В.А. Человек в воздушном океане. М.: Изд-во «Национальное обозрение», 2006. 215 с.

37. Сафонов В.А., Ефимов В.Н., Чумаченко А.А. Нейрофизиология дыхания. М., 1980. 221 с.
38. Сафонов В.А., Миняев В.И., Полунин И.Н. Дыхание. М., 2000. 254 с.
39. Сафонов В.А., Чумаченко А.А., Ефимов В.Н. Структура и функции дыхательного центра // Современные проблемы физиологии дыхания. Куйбышев.: Изд-во КГУ, 1980. С. 12-21.
40. Сергиевский М.В., Габдрахманов Р.Ш., Огородов А.М., Сафонов В.А., Якунин В.Е. Структура и функциональная организация дыхательного центра. Новосибирск.: Изд-во НГУ, 1993. 192 с.
41. Сергиевский М.В., Меркулова Н.А., Габдрахманов Р.Ш., Якунин В.Е., Сергеев О.С. Дыхательный центр. М., 1975.
42. Симбирцев А.С. Биология семейства интерлейкина 1 человека // Иммунология. 1998. – №3. С. 9-17.
43. Симбирцев А.С. Цитокины: классификация и биологические функции // Цитокины и воспаление. 2004. Т. 3. №2. С. 16-21.
44. Степаничев М.Ю. Цитокины как нейромодуляторы в центральной нервной системе // Нейрохимия. 2005. Т. 22. №1. С. 5.
45. Смирнов А.А. Каротидная рефлексогенная зона. Л., 1945.
46. Ткаченко Б.И. Нормальная физиология человека М: Медицина, 2005.
47. Уэст Дж. Физиология дыхания: Пер.с англ. М., 1988. 200 с.
48. Филиппова Л.В., Ноздрачев А.Д. Висцеральные афференты. Спб.: Информ-Навигатор, 2011. 416с.
49. Филиппова Л.В., Ноздрачев А.Д. Интерорецепция и нейроиммунные взаимодействия. СПб.: Наука, 2007. 295 с.
50. Фрейдлин И.С. Иммунная система и ее дефекты. СПб.: НТФФ-«Полисан», 1998.
51. Холден Дж., Пристли Дж.Г. Дыхание. Пер. со 2-го англ. изд. М., Л.: Биомедгиз, 1937. 464 с.
52. Шик Л.Л. Основные черты управления дыханием // Физиология дыхания. (Сер. Основы современной физиологии). СПб, 1994. С.342-354.

53. Acker H., Dufau E., Huber J., Sylvester D. Indications to an NADPH oxidase as a possible PO_2 sensor in the carotid body // FEBS Lett. 1989. V. 256. P. 75-78.
54. Agui T, Xin X, Cai Y, Sakai T, Matsumoto K. Stimulation of interleukin-6 production by endothelin in rat bone marrow-derived stromal cells // Blood. 1994. V. 84. №8. P. 2531-8.
55. Aleksandrova N.P., Danilova G.A. Effect of intracerebroventricular injection of interleukin-1-beta on the ventilatory response to hyperoxic hyperventilation // Eur J. Med Res. 2010. V. 15. Supp.II. P. 1-4.
56. Anisman H., Merali Z. Cytokines, stress and depressive illness // Brain. Behav. Immun. 2002. V. 16. № 5. P. 513.
57. Aoki M., Mory S., Kawahara N. et al. Generation of spontaneous respiratory rhythm in high spinal cats // Brain Res. 1980. V. 202. P. 51-63.
58. Aylwin M.L., Horowitz J.M., Bonham A.C. Non-NMDA and NMDA receptors in the synaptic pathway between area postrema and nucleus tractus solitarius // Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. 1998. V. 275. P. 1236.
59. Bajetto A., Bonavia R., Barbero S., Schettini G. Characterization of chemokines and their receptors in the central nervous system: physiopathological implications // J. Neurochem. 2002. V. 82. P. 1311.
60. Balan K.V., Kc P., Hoxha Z., Mayer C.A., Wilson C.G., Martin R.J. Vagal afferents modulate cytokine-mediated respiratory control at the neonatal medulla oblongata // Respiratory Physiology and Neurobiology. 2011. V. 178. P. 458-464.
61. Balan K.V., Kc P., Mayer C.A., Wilson C.G., Belkadi A., Martin R.J. Intrapulmonary lipopolysaccharide exposure upregulates cytokine expression in the neonatal brainstem // Acta Paediatrica. 2012. V. 101. P. 466-471.
62. Ballantyne D., Richter D.W. The non-uniform character of expiratory bulbospinal neurones of the cat // J. Physiol. 1986. V. 370. P. 433-456.
63. Ballanyi K., Onimaru H., Homma I. Respiratory network function in the isolated brainstem-spinal cord of newborn rats // Prog. Neurobiol. 1999. V. 59. P. 583-634.
64. Banks W.A., Kastin A.J. Relative contributions of peripheral and central

sources to levels of IL-1 α in the cerebral cortex of mice: assessment with species-specific enzyme immunoassays // J. Neuroimmunol. 1997. V. 79. № 1. P. 22.

65. Banks W.A., Kastin A.J., Broadwell R.D. Passage of cytokines across the blood-brain barrier // Neuroimmunomodulation. 1995. V. 2. № 4. P. 241.

66. Bataillard A., Sassard J. Cardiovascular effects of human recombinant interleukin-1 β in conscious rats // American Journal of Physiology. 1994. V. 35. P. 1148-1153.

67. Baumgarten R, Kanzow E. The interaction of two types of inspiratory neurons in the region of the tractus solitarius of the cat // Arch. Ital. Biol. 1958. V. 96. P. 361-373.

68. Berger A.J., Cooney K.A. Ventilatory effects of kainic acid injection of the ventrolateral solitary nucleus // J. Appl. Physiol. 1982. V. 52. № 1. P. 131-140.

69. Berkenbosch A., Bovill J.G., Dahan A., DeGoede J., Olievier I.C. The ventilatory CO₂ sensitivities from Read's rebreathing method and the steady-state method are not equal in man // J Physiol. 1989. V. 411. P. 367-377.

70. Bianchi A.L., Denavit-Saubie M., Champagnat J. Central control of breathing in mammals: neuronal circuitry, membrane properties, and neurotransmitters // Physiol. Rev. 1995. V. 75. № 1. P. 1-45.

71. Bianchi A.L. Localization of respiratory bulbosoinal and propriobulbar neurons in the region of the nucleus ambiguus of the rat // Brain Res. 1971. V. 65. P. 15-42.

72. Bileviciute I., Lundeberg T., Ekblom A., Theodorsson E. The effect of a single dose of hrIL-1 α on substance P-, neurokinin A-, calcitonin gene-related peptide- and neuropeptide Y-like immunoreactivity in cerebrospinal fluid, plasma and knee joint synovial fluid in rat knee // Regul. Pept. 1994. V. 53. P. 71-76.

73. Biscoe T.J. Carotid body: structure and function // Physiol. Rev. 1971. V. 51. P. 437-495.

74. Breder C.D., Hazuka C., Ghayur T. et al. Regional induction of tumor necrosis factor- α expression in the mouse brain after systemic lipopolysaccharide administration // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1994. V. 91. P. 11393-11397.

75. Caille D., V.Bert J.-F., Hugelen A. Apneusis and apnea after parabrachial or kolliker – Fuse n.lesion: influence of Wakefulness // Respir.Physiol. 1981. V. 45. P. 79-95.
76. Casadevall C., Coronell C., Ramirez-Sarmiento A.L. et al. Upregulation of pro-inflammatory cytokines in the intercostal muscles of COPD patients // Eur. Respir. J. 2007. V. 30. № 4. P. 701.
77. Cegla V.H. Zur form dem CO₂-antwort-kurve unter kunstlicher hyperkapnia. // Pneumonologie. 1973. Bd. 149. S. 213-218.
78. Chamberlin N.L. Functional organization of the parabrachial complex and intertrigeminal region in the control of breathing // Respir. Physiol. Neurobiol. 2004. V. 143. P. 115-125.
79. Chao C.C., Hu S., Ehrlich L., Peterson P.K. Interleukin-1 and tumor necrosis factor-α synergistically mediate neurotoxicity: involvement of nitric oxide and of N-methyl-D-aspartate receptors // Brain Behav. Immunol. 1995. V. 9. P. 355-365.
80. Chaskiel L., Konsman J.P. Brain interleukin-1 beta expression and action in the absence of neuropathology // Neuroimmune biology. 2008. V.6
81. Chen C.Y. Bonham A.C. Non-NMDA and NMDA receptors transmit area postrema input to aortic baroreceptor neurons in NTS // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 1998. V. 275.P. 1695.
82. Churchill L., Taishi P., Wang M. et al. Brain distribution of cytokine m RNA induced by systemic administration of interleukin-1beta or tumor necrosis factor alpha // Bran Res. 2006. V. 1120. № 1. P. 64.
83. Cohen M.I., Piercey M.F., Gootman P.M., Wolotsky P. Synaptic connections between medullary inspiratory neurons and phrenic motoneurons as revealed by cross-correlation // Brain Res. 1974. V. 81. P. 319-324.
84. Cohen M.I., Shaw C.F. Vagal afferent inputs to dorsolateral rostral pontine inspiratory-modulated neurons // Respir. Physiol. Neurobiol. 2004. V. 143. P. 127-140.
85. Crown J., Casper E.S., Botet J. et al. Lack of efficacy of high-dose leucovorin and fluorouracil in patients with advanced pancreatic adenocarcinoma // J Clin Oncol. 1991. V. 9. P. 1682.

86. Curran A.K, Chen G., Darnall R.A., Filiano J.J., Li A., Nattie E.E. Lesion or muscimol in the rostral ventral medulla reduces ventilatory output and the CO₂ response in decerebrate piglets // Respiration Physiology. 2000. V. 123. № 1-2. P. 23–37.
87. Dantzer R, Konsman J.P, Bluthe R.M, Kelley K.W. Neural and humoral pathways of communication from the immune system to the brain: parallel or convergent? // Auton. Neurosci. 2000. V. 85. P. 60.
88. Dejours P. Chemoreflexes in breathing // Physiol. Revs. 1962. V. 42. P.335-358.
89. DeVito W.J., Avakian C., Stone S., Okulicz W.C., Tang K.T., Shamgochian M. Prolactin induced expression of interleukin-1 alpha, tumor necrosis factor-alpha, and transforming growth factor-alpha in cultured astrocytes // J Cell Biochem. 1995. V. 57. №2. P. 290-298.
90. Eldridge F.L., Kiley J.P., Millhorn D.E. Mechanisms of respiratory response to isoproterenol in glomectomized cats // J Appl Physiol. 1985 V. 58. №1. P. 83-88.
91. Entrain P., Linnemann K., Schlaak M., Zabel P. Obstructive sleep apnoea syndrome and circadian rhythms of hormones and cytokines // Am. J. Respir. Crit. Care Med. 1996. V. 153. P. 1080.
92. Ericsson A., Kovacs K.J., Sawchenko P.E. A functional anatomical analysis of central pathways subserving the effects of interleukin-1 on stress-related neuroendocrine neurons // J.Neurosci. 1994. V. 14. №2. P. 897.
93. Ericsson A., Liu C., Hart R.P., Sawchenko P.E. Type 1 interleukin-1 receptor in the rat brain: distribution, regulation, and relationship to sites of IL-1-induced cellular activation // J. Comp. Neurol. 1995. V. 361. P. 681–698.
94. Erlichman J.S., Boyer A.C., Reagan P., Putnam R.W., Ritucci N.A., Leiter J.C. Chemosensory responses to CO₂ in multiple brain stem nuclei determined using a voltage-sensitive dye in brain slices from rats // J. Neurophysiol. 2009. V. 102. № 3. P.1577-1590.
95. Euler C. Brain stem mechanisms for generation and control of breathing

- pattern // Handb. Physiol. Sect.3. The respirat. Syst. Bethesda. 1986. №2. P. 1-67.
96. Euler C. On the central pattern generator for the basic breathing rhythmic // J. Appl. Physiol. 1983. V. 55. P. 1647.
97. Euler C. The contribution of sensory inputs to the pattern generation of breathing // Canadian journal of Physiology and Pharmacology. 1981. V. 59. P. 700-706.
98. Ezure K., Tanaka I. Pump neurons of the solitary tract project widely to the medulla // Neurosci. Lett. 1996. V. 215. P. 123-126.
99. Fedorko L., Merrill E.G. Axonal projections from the rostral expiratory neurones of the Botzinger complex to medulla and spinal cord in the cat // J. Physiol. 1984. V. 350. P. 487-496.
100. Feldman J.L., Loewy A.D., Speck D.F. Projections from the ventral respiratory group to phrenic and intercostal motoneurons in cat: an autoradiographic study // J. Neurosci. 1985. V. 8. P. 1993-2000.
101. Feldman J.L. et al. Respiratory pattern generation in mammals // Neurobiol.control of breathing. 1987. P. 157-164.
102. Fernandez R., Gonzalez S., Rey S., Cortes P.P., Maisey K.R., Reyes E.P., Larrain C., Zapata P. Lipopolysaccharide-induced carotid body inflammation in cats: functional manifestations, histopathology and involvement of tumour necrosis factor-alpha // Experimental Physiology. 2008. V. 93. P. 892–907.
103. Fernandez R., Nardocci G., Simon F., Martin A., Becerra A., Rodriguez-Tirado C., Maisey K.R., Acuna-Castillo C., Cortes P.P. Lipopolysaccharide signaling in the carotid chemoreceptor pathway of rats with sepsis syndrome // RespiratoryPhysiology and Neurobiology. 2011. V. 175. P. 336–348.
104. Froen J.F., Akre H., Stray-Pedersen B., Saugstad O.D. Prolonged apneas and hypoxia mediated by nicotine and endotoxin in piglets // Biology of the Neonate. 2002. V. 81. P. 119–125.
105. Fukuda V., Hayashi F., Yoshida A., Honda V. Quick and quantitative analysis of the CO-ventilation response of anaesthetized rats by the ubreathing method. // In: Integrative Control Function of Brain. 1981. V. 3. P. 216-218.
106. Gauda E.B., Shirahata M., Mason A., Pichard L. E., Kostuk E. W.,

Chavez-Valdez R. Inflammation in the carotid body during development and its contribution to apnea of prematurity // Respiratory Physiology & Neurobiology. 2013. V. 185. P. 120-131.

107. Gayle D., Ilyin S.E., Romanovitch A.E., Peloso E., Satinoff E., Plata-Salaman C.R. Basal and IL-1beta-stimulated cytokine and neuropeptide mRNA expression in brain regions of young and old Long-Evans rats // Brain Res Mol. 1999. V. 70. № 1. P. 92-100.

108. Godoy I., Campana A.O., Geraldo R.R. et al. Cytokines and dietary energy restriction in stable chronic obstructive pulmonary disease patients // Eur. Respir. J. 2003. V. 22. P. 920.

109. Gomez-Nino A., Lopez-Lopez J.R., Almaraz L., Gonzalez C. Inhibition of [³H] catecholamine release and Ca²⁺ currents by prostaglandin E2 in rabbit carotid body chemoreceptor cells // Journal of Physiology (London). 1994. V. 476. P. 269–277.

110. Gordon F.J. Effect of nucleus tractus solitarius lesions on fever produced by interleukin-1beta // Auton. Neurosci. 2000. V. 85. P. 102.

111. Gosselin L.E, Barkley J.E, Spencer M.J. et al. Ventilatory dysfunction in mdx mice: impact of tumour necrosis factor-alpha deletion // Muscle Nerve. 2003. V. 28. P. 336.

112. Graff G.R., Gozal D. Cardiorespiratory responses to interleukin-1beta in adult rats: role of nitric oxide, eicosanoids and glucocorticoids // Arch. Physiol. Biochem. 1999. V. 107. P. 97–112.

113. Gross P.M, Wall K.M, Pang J.J. et al. Microvascular specializations promoting rapid interstitial solute dispersion in nucleus tractus solitarius // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 1990. V. 259. P. 1131.

114. Guntheroth W. G. Crib Death: The sudden infant death syndrome. New York.: Futura Publishing Company, 1989.

115. Hansen M.K., Taishi P., Chen Z., Krueger J.M. Cafeteria feeding induces interleukin-1beta mRNA expression in rat liver and brain // Am J Physiol. 1998a. V. 274. №6. Pt 2. P. 1734-1739.

116. Hansen M.K. Taishi P., Chen Z., Krueger J.M. Vagotomy blocks the in-

duction of interleukin-1 β (IL-1 β) mRNA in the brain of rats in Response to systemic IL-1 β // J. Neurosci. 1998b. V. 18. № 6. P. 2247.

117. Hayashi F., Yoshida A., Fukuda Y., Honda Y. The ventilatory response to hypoxia in the anesthetized rat // Pflugers Arch. 1983. V. 396. № 2. P. 121-127.

118. Herlenius E. An inflammatory pathway to apnea and autonomic dysregulation // Respiratory Physiology and Neurobiology. 2011. V. 178. P. 449–457.

119. Heymans C., Cordier D. Le centre respiratoire. 1935.

120. Hofstetter A.O., Herlenius E. Interleukin-1beta depresses hypoxic gasping and autoresuscitation in neonatal DBA/1lacJ mice // Respir. Physiol. Neurobiol. 2005. V. 146. №2-3. P. 135.

121. Hofstetter A.O., Legnevall L., Herlenius E., Katz-Salamon M. Cardiorespiratory development in extremely preterm infants: vulnerability to infection and persistence of events beyond termequivalent age // Acta Paediatrica. 2008. V. 97. P. 285–292.

122. Hofstetter A.O., Saha S., Siljehav V. et al. The induced prostaglandin E₂ pathway is a key regulator of the respiratory response to infection and hypoxia in neonates // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2007. V. 104. № 23. P. 9894.

123. Hopkins S.J., Rothwell N.J. Cytokines in the nervous system I: Expression and recognition // Trends Neurosci. 1995. V. 18. P. 83-88.

124. Horn E.M., Waldrop T.G. Modulation of the respiratory responses to hypoxia and hypercapnia by synaptic input onto caudal hypothalamic neurons // Brain Research. 1994. V. 664. № 1-2. P. 25–33.

125. Hoskin R.W., Duffin J. Excitation of upper cervical inspiratory neurons of the nucleus retroambigualis in the cat // Expl. Neurol. 1987. V. 98. P. 404-417.

126. John W.M. St. Integration of peripheral and central chemoreceptor stimuli by pontine and medullary respiratory centers // Fed Proc. 1977. V. 36. № 10. P. 2421.

127. Kao F.F. An introduction to respiratory physiology. Amsterdam, 1972.

128. Kalia M., Feldman J.L., Cohen M.I. Afferent projections to the inspiratory neuronal region of the ventrolateral nucleus of the tractus solitarius in the cat // Brain Research. 1979. V. 171. № 1. P. 135-141.

129. Klausen T., Olsen N.V., Poulsen T.D. et al. Hypoxemia increases serum interleukin-6 in humans // Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol. 1997. V. 76. P. 480.
130. Koechlin C., Couillard A., Cristol J.P. et al. Does systemic inflammation trigger local exercise-induced oxidative stress in COPD? // Eur. Respir. J. 2004. V.23. P. 538.
131. Lacroix S., Vallieres L., Rivest S. C-fos mRNA pattern and corticotropin-releasing factor neuronal activity throughout the brain of rats injected centrally with a prostaglandin of E2 type // J. Neuroimmunol. 1996. V.70. №2. P. 163-79.
132. Leusen I.R. Chemosensitivity of the respiratory center. Influence of changes in the H⁺ and total buffer concentrations in the cerebral ventricles on respiration // Amer. J. Physiol. 1954. V. 176. P. 45-51.
133. Leusen I.R., Weyne J. Central neurons environment and the control system of breathing and circulation // Berlin. 1983. P. 1-12.
134. Liu X., L. He B. Dinger L. Stensaas S. Fidone. Sustained exposure to cytokines and hypoxia enhances excitability of oxygen-sensitive type I cells in rat carotid body: Correlation with the expression of HIF-1 α protein and adrenomedullin // High Alt Med Biol. 2013. V. 14. № 1. P. 53–60.
135. Loeschke H.H. Respiratory chemosensitivity in the medulla oblongata // Acta neurobiol.exp. 1973. V. 33. P. 97-112.
136. Loeschke H.H., DeLattre J., Schläfke M. E., Trout C.O. Effects on respiration and circulation of electrically stimulating the ventral surface of the medulla oblongata // Respir. Physiol. 1970. V. 10. P. 184-197.
137. Long S., Duffin J. The neuronal determinants of respiratory rhythm // Prog. Neurobiol. 1986. V. 27. P. 101-182.
138. Lopata M., Zubillaga G., Evanich M.J., Lourenço R.V. Diaphragmatic EMG response to isocapnic hypoxia and hyperoxic hypercapnia in humans // J Lab Clin Med. 1978. V. 91. №4. P. 698-709.
139. Mahutte C.K., Rebuck A.C. Influence of rate of induction of hypoxia on the ventilatory response // J.Physiol. (Gr.Brit.). 1978. V. 284. P. 219-227.
140. Maier S.F, Goehler L.E, Fleshner M, Watkins L.R. The role of the vagus

- nerve in cytokine-to-brain communication // Ann. NY Acad. Sci. 1998. V. 840. P. 289.
141. McClain C.J., Cohen D., Phillips R., Ott L., Young B. Increased plasma and ventricular fluid interleukin-6 levels in patients with head injury // J. Lab Clin Med. 1991. V. 118 .P. 225-231.
142. Merrill E.G. The lateral respiratory neurones in the medulla: their associations with nucleus ambiguus, nucleus retroambigualis, the spinal accessory nucleus and the spinal cord // Brain Res. 1970. V. 24. P. 11-28.
143. Merrill E.G. Where are the real respiratory neurons? // Federat. Proc. 1981. V. 40. P. 2389-2394.
144. Messier M.L., Li A., Nattie E.E. Muscimol inhibition of medullary raphe neurons decreases the CO₂ response and alters sleep in newborn piglets // Respiratory Physiology & Neurobiology. 2002. V. 133. № 3. P. 197–214.
145. Miller A.d., Ezure K., Suzuki I. Control of abdominal muscles by brain stem respiratory neurons in the cat // J. Neurophysiol. 1985. V. 54. P. 155-167.
146. Minami M, Katayama T, Satoh M. Brain cytokines and chemokines: roles in ischemic injury and pain // J. Pharmacol. Sci. 2006. V. 100. P 461.
147. Mitchell R.A. Respiration// Annu. Rev. Physiol. 1970. V. 32. P. 415-438.
148. Mulkey D.K, Henderson R.A, Putnam R.W, Dean J.B. Hyperbaric oxygen and chemical oxidants stimulate CO₂/H-sensitive neurons in rat brain stem slices // J. Appl. Physiol. 2003. V. 95. P. 910.
149. Mulkey D.K, Henderson R.A, Ritucci N.A et al. Oxidative stress decreases pH_i and Na/H exchange and increases excitability of solitary complex neurons from rat brain slices // Am. J. Physiol. Cell Physiol. 2004. V. 286. P. C940.
150. Nadeau S., Rivest S. Effect of circulation tumor necrosis factor on the neuronal activity and expression of the genes encoding the tumor necrosis factor (p55 and p75) in the rat brain: a view from the blood-brain barrier // Neuroscience. 1999. V. 93. № 4. P. 1449.
151. Nakamori T., Morimoto A., Murakami N. Effect of a central CRF antagonist on cardiovascular and thermoregulatory responses induced by stress or IL-1 β // American Journal of Physiology. 1993. V. 265. P. 834-839.

152. Nattie E.E., Li A.H. CO₂ dialysis in nucleus tractus solitarius region of rat increases ventilation in sleep and wakefulness // J. Appl. Physiol. 2002. V. 92. № 5. P. 2119-2130.
153. Neeb L, Hellen P, Boehnke C, Hoffmann J, Schuh-Hofer S, et al. IL-1b stimulates COX-2 dependent PGE₂ synthesis and CGRP release in rat trigeminal ganglia cells // Journal.pone.0017360. PLoS ONE. 2011. V.6. №3. e17360. doi:10.1371.
154. Nguyen K.T., Deak T., Owens S.M., Kohno T., Fleshner M., Watkins L.R., Maier S.F. Exposure to acute stress induces brain interleukin-1beta protein in the rat // J. Neurosci. 1998. V. 18 P. 2239–2246.
155. Niijima A The afferent discharges from sensors for interleukin-1b in the hepatoportal system in the anesthetized rat // J Auton Nerv Syst. 1996. V. 61. P. 287–291.
156. Olsson A., Kayhan G., Lagercrantz H., Herlenius E. IL-1 beta depresses respiration and anoxic survival via a prostaglandin-dependent pathway in neonatal rats // Pediatr Res. 2003. V. 54. P. 326–331.
157. Oyamada Y, Ballantyne D, Mückenhoff K, Scheid P. Respiration-modulated membrane potential and chemosensitivity of locus coeruleus neurones in the in vitro brainstem-spinal cord of the neonatal rat // J. Physiol. 1998. V. 513. P. 381-398.
158. Paxinos G., Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates // Academic Press. 1982.
159. Peano C.A., Shonis C.A., Dillon G.H., Waldrop T.G. Hypothalamic GABAergic mechanism involved in respiratory response to hypercapnia // Brain Res. Bull. 1991. V. 28. № 1. P. 107–113.
160. Pitossi F., Derley A., Kabiersch A., Besedovsky H. Induction of cytokine transcripts in the central nervous system and pituitary following peripheral administration of endotoxin to mice // J. Neurosci. Res. 1997. V. 48. P. 287-298.
161. Prabhakar N.R. NO and CO as second messengers in oxygen sensing in the carotid body // Respir. Physiol. 1999. V. 115. P. 161-168.
162. Preas H.L., Jubran A., Vandivier R.W. et al. Effect of endotoxin on ventilation and breath variability: role of cyclooxygenase pathway // Am. J. Respir. Crit. Care

Med. 2001. V. 164. P. 620.

163. Putnam R.W., Filosa J.A., Ritucci N.A. Cellular mechanisms involved in CO₂ and acid signaling in chemosensitive neurons // Am. J. Physiol. Cell Physiol. 2004. V. 287. № 6. P. 1493-1526.

164. Quan N., Zhang Z., Emely M. et al. Detection of interleukin-1 bioactivity in various brain regions of normal healthy rats // Neuroimmunomodulation. 1996. V. 3. P. 47-55.

165. Ramirez J.M, Richter D.W. The neuronal mechanisms of respiratory rhythm generation // Curr. Opin. Neurobiol. 1996. V. 6. № 6. P. 817-825.

166. Read J., Rebuck A., Campbell E. Effect of posture on the ventilatory response to CO₂ // J.Appl.Physiol. 1974. V. 37. P. 487-489.

167. Rebuck A.S. Measurement of ventilatory response to CO₂ by rebreathing // Chest. 1976. V. 70. suppl. P.118-121.

168. Rebuck A.S., Campbell E.J. A clinical method for assessing the ventilatory response to hypoxia // Am. Rev. Respir. Dis. 1974. V. 109. P. 345-350.

169. Richter D.W., Ballantyne D. A three phase theory about the basic respiratory pattern generator. Central neurone environment and the central systems of breathing and circulation // Berlin: Springer-Verlag. 1983. P. 164-174.

170. Rothwell N.J. Cytokines-killers in the brain? // J.Physiol. 1999. V. 514. P. 3-17.

171. Rothwell N.J., Hopkins S.J. Cytokines and the nervous system II: Actions and mechanisms of action // Trends. Neurosci. 1995. V. 18. P. 130-136.

172. Rothwell N.J., Lucheshi G.N., Toulmond S. Cytokines and their receptors in the central nervous system: Physiology, pharmacology and pathology // J. Pharm. Therap. 1996. V. 69. P. 85-95.

173. Santiago T.V., Norman H.E., Fishman A.P. The effect of anemia on the ventilatory response to transient and steady – state hypoxia // J. Clin. Invest. 1975. V. 55. P. 410-418.

174. Sasaki H. et al. Morphology of augmenting inspiratory neurons of the ventral respiratory group in the cat // J. Comp. Neurol. 1989. V. 282. P. 157-168.

175. Schalaefke M.E., See W.R., Loeschke H.H. Ventilatory response to alterations of H^+ ion concentration on small areas of the ventral medullary surface // Respir. Physiol. 1970. V. 10. P.198-212.
176. Schlaefke M.E. Central chemosensitivity: a respiratory drive // Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol. 1981. V. 90. P. 171-244.
177. Schwarzacher S.W., Smith J.C., Richter D.W. Pre-Botzinger complex in the cat // J.Neurophysiol. 1995. V. 73. P. 1452-1461.
178. Serra A., Brozoski D., Hedin N., Franciosi R., Forster H.V. Mortality after carotid body denervation in rats // Journal of Applied Physiology. 2001. V. 91 P. 1298-1306.
179. Shadiack A.M., Carlson C.D., Ding M., Hart R.P., Jonakait G.M. Lipopolysaccharide induces substance P in sympathetic ganglia via ganglionic interleukin-1 production // J. Neuroimmunol. 1994. V. 49. P. 51-58.
180. Shu H.F., Wang B.R., Wang S.R., Yao W., Huang H.P., Zhou Z., Wang X., Fan J., Wang T., Ju G. IL-1beta inhibits IK and increases $[Ca^{2+}]_i$ in the carotid body glomus cells and increases carotid sinus nerve firings in the rat // Eur J Neurosci. 2007. V. 12. P. 3638-3647.
181. Smith J.C., Ellenberger H.H., Ballanyi K., Richter D.W., Feldman J.L. Pre-Botzinger complex: a brainstem region that may generate respiratory rhythm in mammals // Science. 1991. V.254. P. 726-729.
182. Solomon I.C. Focal CO_2/H^+ alters phrenic motor output response to chemical stimulation of cat pre-Bötzinger complex in vivo // J. Appl. Physiol. 2003. V. 94. № 6. P. 2151-2157.
183. Somers V.K., Mark A.L., Abboud F.M. Interaction of baroreceptor and chemoreceptor reflex control of sympathetic nerve activity in normal humans // J.Clin.Invest. 1991. V. 87. P. 1953-1957.
184. Speck D.F., Feldman J.L. The effects of microstimulation and microlesions in the ventral and dorsal respiratory groups in medulla of cat // J. Neurosci. 1982. V. 2. №6. P. 744-757.
185. Speck D.F., Webber C.L. Jr. Cerebellar influence on the termination of in-

- spiration by intercostal nerve stimulation // *Respir. Physiol.* 1982. V. 47. P. 231-238.
186. Trout C.O., Millis R.M., Bernard D.G., Pan Y., Whittaker J.A., Archer P.W. Cholinergic-opioid interactions at brainstem respiratory chemosensitive areas in cats // *Neurotoxicology*. 1993. V. 14. № 4. P. 459–467.
187. Tsukagoshi H., Sun J., Kwon O., Barnes P.J., Chung K.F. Role of neutral endopeptidase in bronchial hyperresponsiveness to bradykinin induced by IL-1 beta // *J. Appl. Physiol.* 1995. V. 78. P. 921-927.
188. Van der Kooy D.D., Koda L.Y. Organization of the projections of a circumventricular organ: the area postrema in the rat // *J. Comp. Neurol.* 1983. V. 219. P. 328.
189. Vassilakopoulos T., Divangahi M., Rallis G. et al. Differential cytokine gene expression in the diaphragm in response to strenuous resistive breathing // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2004. V. 170. P. 154.
190. Vassilakopoulos T., Hussain S.N.A. Ventilatory muscle activation and inflammation: cytokines, reactive oxygen species, and nitric oxide // *J. Appl. Physiol.* 2007. V. 102. P. 1687-1695.
191. Vassilakopoulos T., Katsaounou P., Karatza M.H. et al. Strenuous resistive breathing induces plasma cytokines: role of antioxidants and monocytes // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2002. V. 166. P. 1572.
192. Vernooy J.H., Kucukaycan M., Jacobs J.A., Chavannes N.H., Buurman W.A., Dentener M.A., Wouters E.F. Local and systemic inflammation in patients with chronic obstructive pulmonary disease: soluble tumour necrosis factor receptors are increased in sputum // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2002. V. 166. P. 1218-1224.
193. Vgontzas A.N., Papanicolaou D.A., Bixler E.O. et al. Sleep apnoea and daytime sleepiness and fatigue: relation to visceral obesity, insulin resistance, and hypercytokinemia // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2000. V. 85 P. 1151.
194. Vgontzas A.N., Zoumakis M., Bixler E.O., Lin H.M., Polo P., Vela Bueno A., Kales A., Chrousos G.P. Impaired nighttime sleep in healthy old versus young adults is associated with elevated plasma interleukin-6 and cortisol levels // *Physiologic and therapeutic implications. J Endocrinol Metab.* 2003. V. 88. P. 2087–2095.

195. Wang X., Zhang X.J., Xu Z., Li X., Li G.L., Ju G., Wang B.R. Morphological evidence for existence of IL-6 receptor alpha in the glomus cells of rat carotid body // Anatomical Record Part A: Discoveries in Molecular, Cellular, and Evolutionary Biology. 2006 V. 288 P. 292–296.
196. Watanabe T., Tan N., Saiki Y., Makisumi T., Nakamura S. Possible involvement of glucocorticoids in the modulation of interleukin-1-induced cardiovascular responses in rats // Journal of Physiology. 1996. V. 491. № 1. P. 231-239.
197. Weissman C., Abraham B., Askanazi J., Milic-Emili J., Hyman A., Kinney J. Effect of posture on the ventilatory response to CO₂ // J. Appl. Physiol. 1982. V. 53. P.761-765.
198. Wong M.L., Bongiorno P.B., Gold P.W., Licinio J. Localization of interleukin-1 beta converting enzyme mRNA in rat vasculature: evidence that the genes encoding the interleukin-1 system are constitutively expressed in brain blood vessels. Pathophysiological implications // Neuroimmunomodulation. 1995. V. 2. №3. P. 141.
199. Wong M.L., Licinio J. Localization of interleukin 1 type I receptor mRNA in rat brain. Neuroimmunomodulation. 1994. V. 1 № 2. P. 110 – 115.
200. Yokoe T., Minoguchi K., Matsuo H. et al. Elevated levels of C-reactive protein and interleukin-6 in patients with obstructive sleep apnoea syndrome are decreased by nasal continuous positive airway pressure // Circulation. 2003. V. 107. P. 1129.
201. Zakynthinos S., Katsaounou P., Karatza M-H. et al. Antioxidants increase the ventilatory response to hyperoxic hypercapnia // Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2007. V. 175. P. 62.
202. Zapata P., Larrain C., Reyes P., Fernandez R. Immunosensory signalling by carotid body chemoreceptors // Respir. Physiol. Neurobiol. 2011. V. 178. P. 370- 374.
203. Zhang X.J., Wang X., Xiong L.Z., Fan J., Duan X.L., Wang B.R. Up-regulation of IL-1 receptor type I and tyrosine hydroxylase in the rat carotid body following intraperitoneal injection of IL-1beta // Histochemistry and Cell Biology. 2007. V. 128. P. 533–540.
204. Zhang L., Wilson C.G., Liu S., Haxhiu M.A., Martin R.J. Hypercapnia-induced activation of brainstem GABAergic neurons during early development // Respir. Physiol. Neurobiol. 2003. V. 136. № 1. P. 25-37.