

ФИЗИОЛОГИЯ ДЫХАТЕЛЬНЫХ СИСТЕМ

**МЕХАНИЗМЫ МОДУЛЯЦИИ РЕФЛЕКТОРНОГО КОНТРОЛЯ
ДЫХАНИЯ ПРИ ПОВЫШЕНИИ СИСТЕМНОГО УРОВНЯ
ПРОВСПАЛИТЕЛЬНОГО ЦИТОКИНА ИНТЕРЛЕЙКИНА-1 β**

© Н. П. Александрова, В. А. Меркурьев, Т. С. Туманова,
В. Г. Александров

Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия
E-mail: n_aleks@yahoo.com

Исследовано влияние основного провоспалительного цитокина ИЛ-1 β на паттерн дыхания и силу дыхательных рефлексов. Показано, что повышение системного уровня ИЛ-1 β при его внутривенном введении вызывает рост дыхательного объема, увеличение частоты дыхания и вентиляции легких, усиление рефлексов Геринга—Брейера, опосредующих объемно-зависимую обратную связь в системе дыхания и участвующих в механизме смены дыхательных фаз. Установлено, что обнаруженные респираторные эффекты интерлейкина не проявляются на фоне ингибирования циклооксигеназной активности диклофенаком, свидетельствуя о том, что в основе модулирующих влияний провоспалительных цитокинов на рефлекторный контроль дыхания лежит усиление синтеза простагландинов. Показано, что при спокойном не стимулируемом дыхании внутрибрюшинное введение диклофенака не оказывает значимого влияния на паттерн дыхания и дыхательные рефлексы. Сделан вывод об усилении роли простагландинов в регуляции функции дыхания при развитии системного воспалительного ответа.

Ключевые слова: дыхание, цитокины, рефлексы Геринга—Брейера, простагландины, интерлейкин-1 β .

Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. Т. 101. № 10. С. 000—000. 2015

N. P. Aleksandrova, V. A. Merkuriev, T. S. Tumanova, V. G. Aleksandrov. MECHANISMS OF MODULATION OF REFLEX CONTROL OF BREATHING AT ELEVATED SYSTEMIC LEVEL OF PROINFLAMMATORY CYTOKINE INTERLEUKIN-1 β . Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Science, St. Petersburg, Russia, e-mail: n_aleks@yahoo.com.

This study explores the hypothesis about the possible involvement of the cyclooxygenase pathway in the effects of interleukin-1beta (IL-1 β) on the breathing pattern and Hering-Breuer respiratory reflexes. Respiratory frequency (fR), tidal volume (VT) and esophageal pressure were recorded in 29 adult male Wistar rats anaesthetized with urethane. Hering-Breuer reflexes were tested by airway occlusion at achieving functional residual capacity (inspiratory-inhibitory reflex), and at the height of inspiration (expiratory-promoting reflex). It had been shown that an elevation of IL-1 β in the systemic circulation causes an increase in VT, fR, lung ventilation and strengthens respiratory reflexes. These respiratory effects had not been shown if IL-1 β administered after intraperitoneal injection of diclofenac, which had not any significant respiratory effects by itself. Because diclofenac is a non-specific antagonist of cyclooxygenases, it had been concluded that the prostaglandins mediate respiratory effects of IL-1 β in point of fact.

Key words: breathing, cytokines, Hering-Breuer reflex, prostaglandins, interleukin-1 β .

RUSSIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY. V. 101. N 10. P. 000—000. 2015

Цитокины — это физиологически активные вещества, которые в условиях нормальной жизнедеятельности организма образуются в различных органах и тканях в физиологических концентрациях. Известно, что при различных видах воспаления их экспрессия резко усиливается. При этом провоспалительные цитокины, такие как ФНО, ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-10, играют пусковую роль в развитии локального воспаления на тканевом уровне [7]. Однако при резко выраженном локальном воспалении или несостоятельности механизмов, ограничивающих его течение, провоспалительные цитокины могут выходить за пределы местного очага воспаления, поступая в системную циркуляцию и определяя развитие системной воспалительной реакции. При этом содержание в крови провоспалительных цитокинов может в десятки и даже сотни раз превышать нормальные значения. Поступая в циркуляторное русло, цитокины приобретают качество медиаторов уже не только местного, но и системного воспаления, проявляя гормоноподобную активность и действуя на клетки-мишени, находящиеся в отдалении от того места, где в данный момент экспрессируются цитокины. В настоящее время 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 [6]. Это дает основание предполагать участие цитокинов в центральной регуляции различных физиологических функций, в том числе и функции дыхания.

Как известно, для системного воспаления среди прочих неспецифических симптомов общего тяжелого заболевания характерны серьезные нарушения функций дыхания и кровообращения. Именно кардиореспираторные нарушения являются одними из первых симптомов сепсиса, предшествующих развитию полиорганной недостаточности. Они выражаются в артериальной гипотонии, тахикардии или брадикардии, эпизодах апноэ (остановка дыхания), тахипноэ, гипервентиляции. Так как указанные изменения в активности респираторной и сердечно-сосудистой систем не могут осуществляться без участия центральной нервной системы, то логично предположить, что системное воспаление может оказывать влияние на нервные, рефлекторные механизмы регуляции дыхания и кровообращения. При этом одним из действующих факторов могут быть провоспалительные цитокины, экспрессия которых резко усиливается при развитии системной воспалительной реакции.

Установлено, что важнейшим медиатором нейроиммунных взаимодействий, способным оказывать влияние на структуры ЦНС является ИЛ-1 β , основной провоспалительный цитокин [6]. В наших предыдущих исследованиях было показано, что увеличение как церебрального, так и системного уровня ИЛ-1 β влияет на паттерн дыхания, усиливает инспираторно-тормозящий рефлекс Геринга—Брейера, изменяет вентиляторный ответ на гиперкапнию [2, 4, 9]. Эти данные прямо указывают на участие ИЛ-1 β в рефлекторных механизмах регуляции дыхания, которое реализуется посредством влияния на нейроны, входящие в состав соответствующих нервных центров и рефлекторных дуг. Вместе с тем хорошо известно, что цитокины являются довольно крупными полипептидными молекулами, которые не проходят через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ). Поэтому целью данной работы явилось выяснение механизмов, посредством которых повышение периферического уровня ИЛ-1 β оказывает влияние на центральную регуляцию дыхания. Мы предположили, что таким механизмом может быть активация системы вторичных мессенджеров, которую в данном случае могут осуществлять простагландины. Это предположение основано на том, что взаимодействие молекул ИЛ-1 β с соответствующими мембранными рецепторами,

расположенными на клетках цереброваскулярного эндотелия, активирует внутриклеточные циклооксигеназные пути. Активация фермента циклооксигеназы усиливает синтез простагландинов, которые будучи мелкими молекулами, могут легко проходить через ГЭБ и взаимодействовать с соответствующими рецепторами, в большом количестве обнаруженными на нейронах, входящих в состав бульбарного дыхательного центра. Для проверки этого предположения респираторные эффекты ИЛ-1 β исследовались на фоне действия диклофенака — препарата, ослабляющего активность фермента циклооксигеназы и снижающего эндогенный синтез простагландинов.

МЕТОДИКА

Эксперименты проводились на 29 трахеостомированных спонтанно дышащих крысах линии Вистар (самцы, массой 250—300 г), наркотизированных внутрибрюшинным введением уретана из расчета 1250 мг/кг.

Для регистрации объемно-временных параметров внешнего дыхания использовался метод пневмотахографии. Миниатюрная пневмометрическая трубка MLT-1L (ADInstruments, Австралия), обеспечивающая ламинарность проходящего сквозь нее воздушного потока и линейность измерений у мелких лабораторных животных, подсоединялась к трахеостомической канюле. По пневмотахограмме измерялись длительность вдоха и выдоха, максимальная скорость воздушного потока, рассчитывалась частота дыхания. Для измерения дыхательного объема производилось интегрирование пневмотахографической кривой в спирографическую кривую. Для регистрации инспираторных колебаний внутригрудного давления катетер с латексным баллоном, заполненным воздухом, вводился через рот в пищевод и фиксировался в его нижней трети. Катетер соединялся с полупроводниковым преобразователем давления. Сигналы пневмотахограммы и внутригрудного давления оцифровывались и сохранялись на твердом диске персонального компьютера при помощи аппаратно-программного комплекса, созданного на основе устройства сбора биологических данных (ADInstruments, Австралия).

Беталейкин, рекомбинантный препарат человеческого ИЛ-1 β , вводился системно, в бедренную вену в количестве 500 нг, растворенных в 1 мл физиологического раствора. При выполнении контрольных экспериментов в таком же объеме вводился физиологический раствор, не содержащий ИЛ-1 β . Диклофенак, ингибитор фермента циклооксигеназы и эндогенного синтеза простагландинов, вводился внутрибрюшинно в количестве 0.5 мг на крысу. Ректальная температура измерялась на протяжении всего эксперимента и поддерживалась на уровне, не превышавшем 37 °С.

В качестве функциональной пробы, позволяющей оценить выраженность инспираторно-тормозящего рефлекса Геринга—Брейера, использовался метод конечно-экспираторной окклюзии или «функциональной ваготомии»: дыхательные пути перекрывались в конце выдоха на уровне функциональной остаточной емкости легких, когда медленно адаптирующиеся рецепторы растяжения легких практически не активны. Чем сильнее выражен инспираторно-тормозящий рефлекс, тем в большей степени изменяются параметры так называемых постокклюзионных вдохов, т. е. дыхательных попыток на фоне окклюзии. Для количественной оценки выраженности инспираторно-тормозящего рефлекса длительность первого постокклюзионного вдоха, т. е. продолжительность инспираторного колебания внутригрудного давления сразу после окклюзии, выражалась в процентах к длительности последнего предокклюзионного вдоха.

Для количественной оценки выраженности экспираторно-облегчающего рефлекса Геринга—Брейера перекрытия дыхательных путей производились на высоте вдоха, когда тормозный афферентный поток, поступающий в дыхательный

центр от медленно адаптирующихся рецепторов легких, был максимален. Сила экспираторно-облегчающего рефлекса оценивалась по отношению длительности экспираторной паузы, так называемого «вагусного апноэ», наступавшей после окклюзии дыхательных путей к длительности последней экспираторной фазы перед окклюзией.

В процессе исследования были проведены четыре серии экспериментов. Кратковременные окклюзии дыхательных путей (продолжительность не более 2 дыхательных циклов) производились в каждой серии экспериментов до и через каждые 20 мин после введения диклофенака, провоспалительного цитокина ИЛ-1 β , их совместного введения, а также введения физиологического раствора (контрольные эксперименты).

Статистическая обработка данных проводилась программными средствами с использованием статистического пакета Statistic for Windows и Microsoft Excel. Вычислялась средняя величина регистрируемых параметров и ошибка средней. Для выявления достоверности различий использовался однофакторный дисперсионный анализ. Различия считались достоверными при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.

Влияние диклофенака на параметры внешнего дыхания и рефлексы Геринга—Брейера

Прежде чем приступить к решению основной задачи экспериментального исследования — изучению влияния диклофенака на респираторные эффекты системного введения ИЛ-1 β , следовало выяснить, не оказывает ли сам диклофенак какого-либо действия на состояние респираторной системы. С этой целью в специальной серии экспериментов было исследовано влияние внутрибрюшинного введения диклофенака на параметры внешнего дыхания и состояние объемно-зависимой обратной связи в респираторной системе анестезированной крысы при спокойном дыхании.

Эксперименты показали, что диклофенак в использованной дозировке не оказывал достоверного влияния на объемно-временные параметры дыхания (рис. 1). Наблюдалась лишь небольшая тенденция к увеличению частоты дыхания и ско-

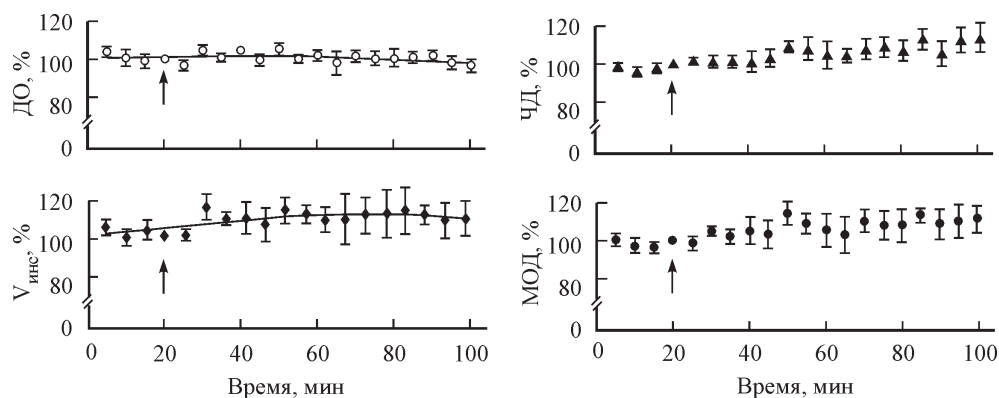


Рис. 1. Динамика объемно-временных параметров дыхания при внутрибрюшинном введении диклофенака.

По оси ординат — изменение параметра в процентах к фону. ДО — дыхательный объем, ЧД — частота дыхания, МОД — минутный объем дыхания, $V_{инс}$ — скорость инспираторного потока. Стрелка — момент введения диклофенака.

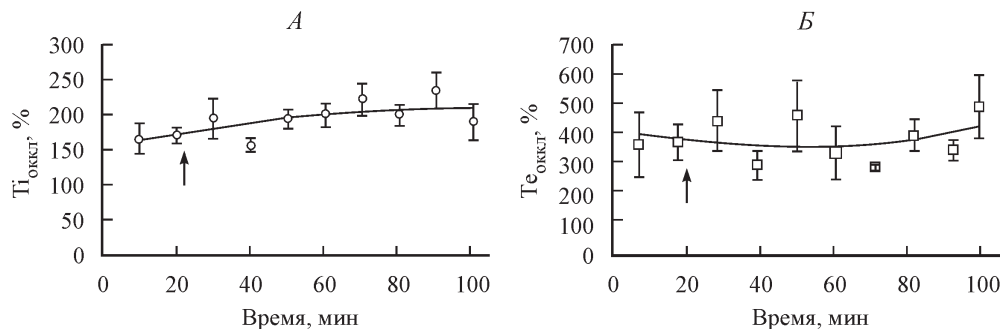


Рис. 2. Динамика силы инспираторно-тормозящего (А) и экспираторно-облегчающего (Б) рефлексов Геринга—Брейера при внутривенном введении диклофенака.

По оси ординат — продолжительность постокклюзионного вдоха ($T_{i_{\text{оккл}}}$) и выдоха ($T_{e_{\text{оккл}}}$). Остальные обозначения те же, что и на рис. 1.

рости инспираторного потока, которая оказалась статистически недостоверной. Не обнаружено и достоверных изменений в величине дыхательного объема и минутного объема дыхания.

При оценке возможного влияния диклофенака на объемно-зависимую обратную связь в системе дыхания было установлено, что нормированная продолжительность постокклюзионного вдоха, характеризующая силу инспираторно-тормозящего рефлекса Геринга—Брейера, имела тенденцию к увеличению после внутривенного введения диклофенака (рис. 2, А). Однако статистическая обработка данных показала недостоверность этих изменений. Введение диклофенака не вызывало значимых изменений и в продолжительности постокклюзионного вагусного апноэ, т. е. не оказывало влияния на силу экспираторно-облегчающего рефлекса. Таким образом, было установлено, что внутривенное введение диклофенака, ингибитора фермента циклооксигеназы и эндогенного синтеза простагландинов, не оказывает значимого влияния на паттерн дыхания и силу рефлексов Геринга-Брейера при спокойном дыхании.

Респираторные эффекты ИЛ-1 β и влияние на них диклофенака

Объемно-временные параметры дыхания. Результаты проведенного исследования показали, что повышение системного уровня ИЛ-1 β вызывает существенные изменения в паттерне дыхания. Так, через 20 мин после начала внутривенного введения ИЛ-1 β наблюдалось изменение в частоте дыхания, которое достигало своих максимальных значений через 40 мин действия ИЛ-1 β , превышая фоновые показатели на $10 \pm 3\%$ (рис. 3, А). Кроме того, через 20 мин после введения ИЛ-1 β наблюдалось увеличение дыхательного объема, значения которого через 40 мин действия ИЛ-1 β превышали фоновый уровень на $23 \pm 6\%$, достигая соответственно $123 \pm 6.5\%$ относительно фона (рис. 3, Б).

Увеличение дыхательного объема и частоты дыхания при внутривенном введении ИЛ-1 β вызвали соответствующий рост легочной вентиляции (рис. 3, В). Через 40 мин после начала введения ИЛ-1 β минутный объем дыхания достигал $138 \pm 11\%$, превышая фоновый уровень на $38 \pm 7\%$. Через 60—70 мин после введения ИЛ-1 β все регистрируемые параметры возвращались к своим исходным величинам. Контрольное введение в бедренную вену физиологического раствора не вызывало значимых изменений в величинах дыхательного объема, частоты дыхания и вентиляции легких.

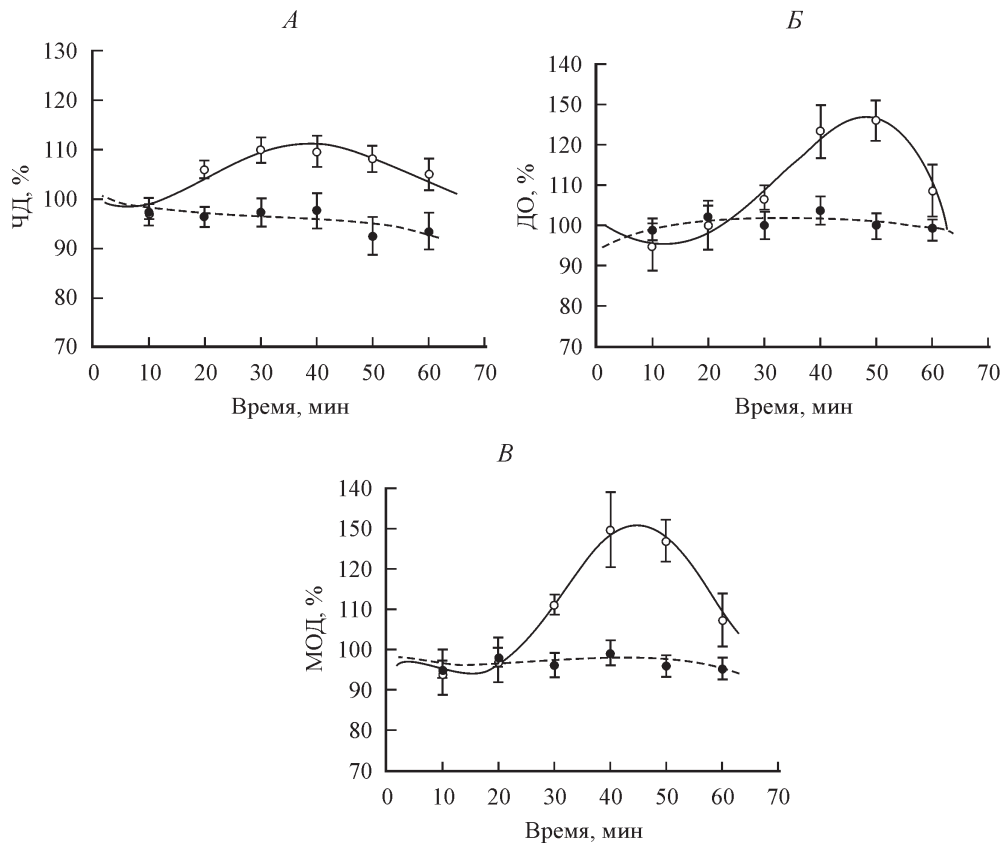


Рис. 3. Изменение объемно-временных параметров дыхания после введения ИЛ-1 β .

По оси абсцисс: продолжительность действия ИЛ-1 β в минутах. Белые кружки — изменение регистрируемых параметров после внутривенного введения ИЛ-1 β . Черные кружки — изменение регистрируемых параметров после сочетанного действия ИЛ-1 β и диклофенака (внутрибрюшинное введение). Остальные обозначения те же, что и на рис. 1.

После внутрибрюшинного введения диклофенака повышение системного уровня ИЛ-1 β не вызывало достоверного увеличения частоты дыхания и роста дыхательного объема (рис. 3, А, Б). Вследствие отсутствия частотных и объемных изменений в паттерне дыхания не наблюдалось и увеличения вентиляции легких (рис. 3, В). Достоверных изменений в величине объемно-временных параметров дыхания не отмечалось даже через 40 мин действия ИЛ-1 β , когда его эффект был максимальным при его введении без диклофенака.

Таким образом, результаты этой части исследования свидетельствуют о влиянии повышенного системного уровня ИЛ-1 β на объемно-временные параметры, характеризующие паттерн дыхания. Полученные данные также указывают на то, что торможение циклооксигеназных путей синтеза простагландинов устраняет влияние ИЛ-1 β как на частотный, так и на объемный компонент вентиляции легких.

Рефлексы Геринга—Брейера. Тестирование инспираторно-тормозящего рефлекса Геринга—Брейера показало, что после внутривенного введения ИЛ-1 β происходило достоверное увеличение продолжительности постокклюзионного вдоха. Максимальных значений этот параметр достигал через 40—50 мин действия ИЛ-1 β . Если до введения данного цитокина окклюзия дыхательных путей в кон-

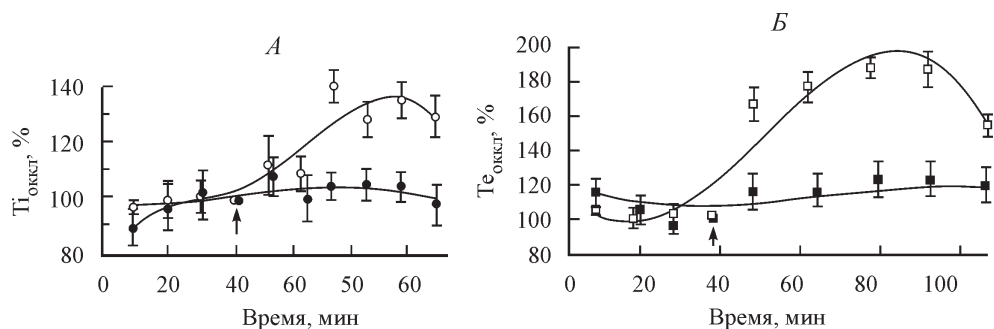


Рис. 4. Влияние ИЛ-1 β на инспираторно-тормозящий (А) и экспираторно-облегчающий (Б) рефлекс Геринга-Брейера.

Белые квадратики — изменение регистрируемых параметров после внутривенного введения ИЛ-1 β ; черные — после сочетания действия ИЛ-1 β и диклофенака (внутрибрюшинное введение). Остальные обозначения те же, что и на рис. 2.

це выдоха увеличивала продолжительность первого постокклюзионного вдоха до $170 \pm 22 \%$, то через 50 мин после введения ИЛ-1 β она возросла уже до $235 \pm 26 \%$. Полученные данные свидетельствуют об усилении инспираторно-тормозящего рефлекса Геринга—Брейера после увеличения содержания ИЛ-1 β в плазме крови. Повышение системного уровня ИЛ-1 β на фоне действия диклофенака не вызвало каких-либо изменений в продолжительности постокклюзионных вдохов. На рис. 4, А показана динамика нормированных значений этого показателя при повышении системного уровня ИЛ-1 β в обычных условиях, а также на фоне действия диклофенака. За 100 % принята продолжительность постокклюзионного вдоха непосредственно перед внутривенным введением ИЛ-1 β , т. е. на 40-й мин эксперимента. Как видно, действие диклофенака полностью устраняет влияние ИЛ-1 β на инспираторно-тормозящий рефлекс.

Для оценки выраженности экспираторно-облегчающего рефлекса Геринга—Брейера производился анализ длительности вагусного апноэ, т. е. увеличения продолжительности выдоха после окклюзии дыхательных путей на высоте вдоха, когда активность рецепторов растяжения легких максимальна. Было установлено, что длительность вагусного апноэ достоверно возрастает на фоне действия ИЛ-1 β . Через 50 мин после введения данного цитокина нормированная величина этого параметра превышала свои исходные значения на 95 %, т. е. возросла почти в два раза, что свидетельствует об усилении экспираторно-облегчающего рефлекса Геринга—Брейера (рис. 4, Б). Сочетанное действие ИЛ-1 β и диклофенака не оказывало влияния на параметры экспираторно-облегчающего рефлекса. Тестирование продолжительности вагусного апноэ по мере действия этих препаратов показало полное отсутствие изменений данного параметра в течение всего эксперимента. Полученные данные свидетельствуют о том, что действие диклофенака устраняло влияние ИЛ-1 β на экспираторно-облегчающий рефлекс.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты проведенного исследования показали, что увеличение уровня ИЛ-1 β в плазме крови вызывает изменение объемно-временных параметров, формирующих паттерн дыхания. Наблюдается увеличение частоты дыхания, дыхательного объема и, как следствие, минутной вентиляции легких. Кроме того, ИЛ-1 β вызывает усиление рефлексов Геринга—Брейера, участвующих в рефлекторной регуляции паттерна дыхания. Поэтому отмеченное увеличение частоты

дыхания вполне могло быть следствием усиления инспираторно-тормозящего рефлекса, реализация которого при активации медленно адаптирующихся рецепторов растяжения вызывает торможение вдоха и досрочную смену дыхательных фаз.

Обнаруженные нами респираторные эффекты ИЛ-1 β свидетельствуют о его влиянии на центральные механизмы регуляции дыхания, что определяется способностью цитокинов выполнять функцию медиаторов нейроиммунных взаимодействий в ЦНС [6]. В настоящее время цитокины выделяются в новую самостоятельную систему регуляции физиологических функций, тесно связанную с нервной и эндокринной системами регуляции [5]. Участвуя в несинаптическом межклеточном взаимодействии, цитокины могут влиять на функциональное состояние нервных клеток и изменять работу различных нейронных сетей, в том числе и тех, которые контролируют функцию дыхания. Установлено, что цитокины могут взаимодействовать с различными медиаторными системами. В частности ИЛ-1 β , как и другие провоспалительные цитокины, способен модулировать активность возбуждающих глутаматергических механизмов в ЦНС [16]. В то же время известно, что глутамат является медиатором в синапсах, которые образованы афферентами медленноадаптирующихся механорецепторов воздухоносных путей на так называемых *putr*-клетках, расположенных в ядре одиночного тракта (NTS). *Putr*-клетки являются нейронами второго порядка в рефлекторной дуге инспираторно-тормозящего рефлекса Геринга—Брейера [14, 17]. Это позволяет предполагать, что выявленное нами усиление инспираторно-тормозящего рефлекса под действием ИЛ-1 β было связано с активацией глутаматергических механизмов на бульбарном уровне. К тому же в наших предыдущих исследованиях было показано, что в реализации рефлексов Геринга—Брейера действительно участвуют и глутамат- и ГАМКергические системы мозга, которые опосредуют также кортикальную модуляцию дыхательных рефлексов [1, 3, 8].

Современными исследованиями показано, что повышение системного уровня ИЛ-1 β вызывает активацию нейронов в респираторно зависимых районах мозгового ствола [10]. В то же время ИЛ-1 β , как уже упоминалось, 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 [20]. 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) (эйкозаноиды, производные арахидоновой кислоты). Они в большом количестве экспрессируются периваскулярными, эндимными клетками и клетками церебрального эндотелия при активации имеющихся здесь цитокиновых рецепторов [22]. Мы предположили, что и в основе зарегистрированных нами респираторных эффектов ИЛ-1 β тоже лежит действие простагландинов. Для проверки этого предположения были проведены эксперименты, в которых влияние ИЛ-1 β на паттерн дыхания и рефлексы Геринга—Брейера исследовалось на фоне действия диклофенака, неспецифического ингибитора циклооксигеназы, фермента, необходимого для образования простагландинов при метаболизме арахидоновой кислоты.

Как известно, ИЛ-1 β взаимодействуя с соответствующим мембранным рецептором (ИЛ-1R1), индуцирует активность COX-2 и митохондриальной синтазы-1 простагландина E (*mPGES-1*). COX-2 катализирует образование простагландина H₂ (PGH₂) из арахидоновой кислоты, а *mPGES-1* катализирует синтез простагландина E₂ (PGE₂) из PGH₂. Диклофенак является препаратом, угнетающим ферментативную активность циклооксигеназы. Это нарушает метаболизм арахидоновой кислоты и, как следствие, угнетает синтез простагландинов. Поэтому зарегистрированное в нашем исследовании отсутствие влияния ИЛ-1 β на объем-

но-временные параметры дыхания и рефлексы Геринга—Брейера на фоне действия диклофенака позволяет сделать вывод о том, что одним из основных механизмов реализации обнаруженных респираторных эффектов ИЛ-1 β является синтез PGE₂.

Вывод о том, что ИЛ-1 β действует на механизмы регуляции дыхания не прямо, а опосредовано подтверждается экспериментальными данными и других авторов. Так, например, было показано, что системное 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 парабрахимальных ядрах, в вентролатеральном отделе продолговатого мозга, т. е. в тех областях, где расположены дыхательные нейроны [11]. 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-1 β индукцией транскрипционного фактора *fos* [11]. Следовательно, 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 [20]. Эти данные доказывают, что действие ИЛ-1 β на центральные механизмы регуляции дыхания не может реализовываться через прямое влияние ИЛ-1 β на респираторные нейроны. Необходимы посредники, участвующие в передаче цитокинового сигнала.

Механизмы, которые активируются ИЛ-1 β и опосредуют его биологические эффекты, являются комплексными и до конца не изученными. Предполагается, что влияние ИЛ-1 β на физиологические функции опосредуются множественными путями. Он может действовать через высвобождение простаноидов, норэпинефрина, кортикотропинрилизинг-фактора, оксида азота [12, 18, 21]. В соответствии с нашими данными в реализации респираторных влияний ИЛ-1 β , по-видимому, в большей степени участвуют простаноид-зависимые механизмы. Индукция PGE₂ является, вероятно, одним из основных специфических механизмов, посредством которого ИЛ-1 β может влиять на функцию нейронов, в том числе и респираторных нейронов. Это доказывают и данные других современных исследований. Так, например, 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 [19]. Результаты нашего исследования, показывающие практически полное исчезновение модуляции паттерна дыхания и дыхательных рефлексов в том случае, когда ИЛ-1 β вводился в кровеносное русло на фоне действия диклофенака, позволяют предположить аналогичный механизм и для влияния ИЛ-1 β на респираторные нейроны. Цепочку событий, происходящих после повышения системного уровня ИЛ-1 β , можно описать следующим образом. Увеличение содержания ИЛ-1 β в крови способствует индукции COX-2 эндотелием церебральных сосудов, имеющим большое количество рецепторов ИЛ-1. В результате усиливается синтез PGE₂, молекулы которого высвобождаются в межклеточное пространство и оказывают действие на нейроны (в том числе и респираторные), имеющие рецепторы к PGE₂. Это так называемые EP3-рецепторы, высокий уровень экспрессии которых обнаруживается в области ядра одиночного тракта, амбигуального ядра, парабрахимальных ядер, т. е. в респираторно-зависимых областях мозгового ствола.

Принципиальная способность простагландинов оказывать влияние на функцию внешнего дыхания имеет экспериментальные доказательства. При введении крысам в правый латеральный желудочек мозга 2 мкг PGE₂ через 30 мин после введения обнаруживается сильный положительный сигнал мРНК, кодирующий

ранний ген *c-fos* в ядре одиночного тракта, в моторном ядре вагуса, в дорсальном отделе амбигуального ядра [15]. Эти данные обеспечивают доказательство того, что центральная инъекция PGE₂ вызывает специфическую и селективную экспрессию *c-fos* в тех структурах мозга, которые участвуют в регуляции дыхания. Предполагается также, что простагландин E₂ может быть ключевым регулятором респираторных ответов на инфекцию и гипоксию у новорожденных [13, 20]. Результаты нашего исследования существенно дополняют эти данные, так как они прямо указывают на участие простагландинов как передатчиков цитокинового сигнала в модуляции паттерна дыхания и дыхательных рефлексов не только у новорожденных, но и у взрослых животных с уже сформированной центральной сетью респираторных нейронов.

Таким образом, полученные нами данные позволяют утверждать, что увеличение уровня ИЛ-1β в плазме крови вызывает изменение не только паттерна дыхания, но и рефлекторных механизмов, лежащих в основе механорецепторной регуляции дыхания: наблюдается усиление рефлексов Геринга—Брейера, опосредующих объемно-зависимую обратную связь в системе дыхания, которая участвует в механизме смены дыхательных фаз. Респираторные эффекты, вызываемые повышением системного уровня ИЛ-1β, не проявляются на фоне ингибирования циклооксигеназной активности, свидетельствуя о том, что в основе модулирующих влияний провоспалительных цитокинов на механорецепторный контроль дыхания лежит усиление синтеза простагландинов. Согласно полученным данным при спокойном дыхании в нормальных условиях простагландины практически не участвуют в рефлекторных механизмах регуляции дыхания. Об этом свидетельствует отсутствие значимых изменений в объемно-временных параметрах дыхания и силе дыхательных рефлексов при внутрибрюшинном введении диклофенака. Однако роль простагландинов в регуляции функции дыхания значительно возрастает при увеличении экспрессии провоспалительных цитокинов, которое наблюдается при развитии системного воспалительного ответа. Полученные данные позволяют предполагать, что не только экспериментально вызванное экзогенное увеличение уровня циркулирующих провоспалительных цитокинов, но и их эндогенная экспрессия, наблюдаемая в патологических условиях, также может оказывать модулирующее влияние на паттерн и рефлекторные механизмы регуляции дыхания посредством усиления синтеза простагландинов.

Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 15-15-00119).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] Александров В. Г., Буй Тхи Хыонг, Александрова Н. П. Влияние повышенного церебрального уровня глутамата на состояние респираторной системы анестезированной крысы. Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 98(7): 845—853. 2012.
- [2] Александрова Н. П. Цитокины и резистивное дыхание. Физиология человека. 38 (2): 119—129. 2012.
- [3] Александрова Н. П., Александров В. Г., Иванова Т. Г. Влияние гамма-аминомасляной кислоты на инспираторно-тормозящий рефлекс Геринга—Брейера. Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 94(12): 1356—1364. 2008.
- [4] Александрова Н. П., Меркурьев В. А., Александров В. Г. Влияние интерлейкина-1 на паттерн дыхания и инспираторно-тормозящий рефлекс Геринга—Брейера. Вест. Тверского гос. унив-та. Сер.: Биология и экология. 2: 9—17. 2013.
- [5] Кетлинский С. А., Симбирцев А. С. Цитокины. СПб. Фолиант. 2008.
- [6] Мюльберг А. А., Гришина Е. В. Цитокины как медиаторы нейроиммунных взаимодействий. Успехи физиол. наук. 37 (1): 18—22. 2006.
- [7] Ройт А., Бростовф Дж., Мейл Д. Иммунология. Пер. с англ. М. Мир. 2000.

- [8] *Aleksandrov V. G., Mercuriev V. A., Ivanova T. G., Tarasevich A. A., Aleksandrova N. P.* Cortical control of Hering—Breuer reflexes in anaesthetized rats. *Eur. J. Med. Res.* 14 (IV): 1—5. 2009.
- [9] *Aleksandrova N. P., Danilova G. A.* Effect of intracerebroventricular injection of interleukin-1-beta on the ventilatory response to hyperoxic hypercapnia. *Eur. J. Med. Res.* 15 (II): 3—6. 2010.
- [10] *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.* 14 (2): 897—905. 1994.
- [11] *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.* 361 (4): 681—698. 1995.
- [12] *Graff G. R., Gozal D.* Cardiorespiratory responses to interleukin-1beta in adult rats: role of nitric oxide, eicosanoids and glucocorticoids. *Arch. Physiol. Biochem.* 107 (2) : 97—112. 1999.
- [13] *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.* 104 (23): 98—94. 2007.
- [14] *Kubin L., Alheid G. F., Zuperku E. J., McCrimmon D. R.* Central pathways of pulmonary and lower airway vagal afferents. *J. Appl. Physiol.* 101 (2): 618—627. 2006.
- [15] *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.* 70 (2): 163—179. 1996.
- [16] *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.* 840: 289—294. 1998.
- [17] *Miyazaki M., Tanaka I., Ezure K.* Excitatory and inhibitory synaptic inputs shape the discharge pattern of pump neurons of the nucleus tractus solitarii in the rat. *Exp. Brain Res.* 129 (2): 191—200. 1999.
- [18] *Nakamori T., Morimoto A., Murakami N.* Effect of a central CRF antagonist on cardiovascular and thermoregulatory responses induced by stress or IL-1 β . *Am. J. Physiol.* 265 (4) : 834—839. 1993.
- [19] *Neeb L., Hellen P., Boehnke C., Hoffmann J., Schuh-Hofer S., Dirnagl U., Reuter U.* IL-1b stimulates COX-2 dependent PGE2 synthesis and CGRP release in rat trigeminal ganglia cells. *PLoS One.* 6(3): e17360. doi:10.1371. journal. pone. 0017360. 2011.
- [20] *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.* 54 (3) : 326—331. 2003.
- [21] *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. *J. Physiol.* 491(1): 231—239. 1996.
- [22] *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.* 2(3): 141—148. 1995.

Поступила 7 VII 2015