

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИИ им. И.П. ПАВЛОВА  
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

На правах рукописи.

Меркурьев  
Владимир Александрович

**МЕХАНИЗМЫ МОДУЛИРУЮЩЕГО ВЛИЯНИЯ ИНТЕРЛЕЙКИНА-  
1БЕТА НА МЕХАНОРЕЦЕПТОРНЫЙ КОНТУР РЕГУЛЯЦИИ ДЫХАНИЯ**

Специальность 03.03.01 – физиология

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Научный руководитель:  
доктор биологических наук  
Александрова Н.П.

Санкт-Петербург  
2020

## ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ .....	4
ВВЕДЕНИЕ .....	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРНЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	12
1.1. Основные механизмы регуляции дыхательной системы .....	12
1.1.1. Центральный дыхательный механизм.....	13
1.1.2. Хеморецепторный контур регуляции дыхания. ....	22
1.1.3. Механорецепторный контур регуляции дыхания. ....	29
1.2. Объемно зависимая обратная связь в системе дыхания. ....	33
1.2.1. Рефлексы Геринга-Брейера .....	33
1.2.2. Инспираторное возбуждение при изменении объема легких. ....	37
1.2.3. Особенности рефлексов на изменения объема легких у животных и человека.....	41
1.3. Цитокины и регуляция физиологических функций.....	44
1.3.1. Общая характеристика и классификация цитокинов.....	44
1.3.2. Семейство интерлейкинов и их рецепторы .....	46
1.3.3. Действие цитокинов на физиологические функции организма....	52
ГЛАВА 2 ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	55
2.1. Объект исследования. ....	55
2.2 Хирургическая подготовка животного к эксперименту. ....	55
2.3. Метод регистрации объемно-временных параметров дыхания.....	56
2.4. Оценка общего инспираторного усилия .....	58
2.5. Способ оценки силы рефлексов Геринга-Брейера.....	59
2.6. Методики введения биологически активных веществ .....	61
2.7. Экспериментальная установка.....	62
2.8. Экспериментальные протоколы и статистическая обработка данных. ....	63
ГЛАВА 3 ВЛИЯНИЕ ИЛ-1В НА ПАТТЕРН ДЫХАНИЯ.....	65
3.1. Влияние повышения церебрального уровня ИЛ-1 $\beta$ на объемно-временные параметры дыхания. ....	65
3.2. Влияние повышения системного уровня ИЛ-1 $\beta$ на объемно-временные параметры дыхания. ....	69
3.3. Обсуждение .....	71

ГЛАВА 4 ВЛИЯНИЕ ИЛ-1В НА ОБЪЁМНО-ЗАВИСИМУЮ ОБРАТНУЮ СВЯЗЬ В СИСТЕМЕ ДЫХАНИЯ. ....	76
4.1. Модуляция силы рефлекса Геринга-Брейера при повышении церебрального уровня ИЛ-1 $\beta$ .....	76
4.2. Модуляция силы рефлекса Геринга-Брейера при повышении системного уровня ИЛ-1 $\beta$ .....	78
4.3. Обсуждение. ....	79
ГЛАВА 5. ЦИКЛООКСИГЕНАЗНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕАЛИЗАЦИИ РЕСПИРАТОРНЫХ ЭФФЕКТОВ ИЛ-1 $\beta$ .....	83
5.1. Влияние диклофенака на параметры внешнего дыхания и рефлексы Геринга-Брейера.....	84
5.2. Влияние ИЛ-1 $\beta$ на паттерн дыхания на фоне действия диклофенака.....	86
5.3. Влияние ИЛ-1 $\beta$ на силу рефлексов Геринга-Брейера на фоне действия диклофенака. ....	87
5.4. Обсуждение. ....	89
ГЛАВА 6. УЧАСТИЕ NO-ЗАВИСИМЫХ МЕХАНИЗМОВ В РЕАЛИЗАЦИИ РЕФЛЕКТОРНЫХ ВЛИЯНИЙ ИЛ-1В .....	93
6.1. Влияние L-NAME - ингибитора NO синтазы, на паттерн дыхания и инспираторно-тормозящий рефлекс Геринга-Брейера. Результаты контрольных экспериментов .....	94
6.2 Результаты экспериментов с введением ИЛ-1 $\beta$ на фоне действия L-NAME. ....	96
6.3. Реакция на конечно-эспираторную окклюзию при повышении системного уровня ИЛ-1 $\beta$ на фоне действия L-NAME.....	98
6.4. Обсуждение. ....	99
ГЛАВА 7. УЧАСТИЕ ГЛУТАМАТЕРГИЧЕСКОЙ ПЕРЕДАЧИ В МОДУЛИРУЮЩИХ ВЛИЯНИЯХ ИЛ-1 $\beta$ НА ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПАРАМЕТРЫ СИСТЕМЫ ВНЕШНЕГО ДЫХАНИЯ.....	102
7.1 Влияние дизоцилпина (МК-801) на параметры внешнего дыхания. ....	102
7.2 Влияние МК-801 на параметры внешнего дыхания в условиях повышенного системного уровня ИЛ-1 $\beta$ .....	103
7.3. Обсуждение. ....	104
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	106
ВЫВОДЫ.....	110
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ЛИТЕРАТУРНЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	111

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВРГ - вентральная 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

ФОЕ – функциональная остаточная емкость

ЦСЖ - цереброспинальная жидкость

ЧД - частота дыхания

ЭМГ - электромиограмма

ИЛ-1 $\beta$  - интерлейкин – 1 бета

L-NAME - N-нитро-L-аргинин метилэфир

NMDA - N-метил-D-аспартат

NO - оксид азота

PG - простагландин

TNF- $\alpha$ , ФНО- $\alpha$  фактор некроза опухоли (tumor necrosis factor)

Vинс - средняя скорость инспираторного потока

## ВВЕДЕНИЕ

### **Актуальность исследования.**

Механорецепторный контур регуляции дыхания является важнейшим нервным механизмом, который обеспечивает поддержание оптимального паттерна дыхания, участвуя в модуляции дыхательного ритма. Мощным источником рефлекторной регуляции активности нейронов дыхательного центра является афферентная система легких. Рефлекторные дуги, которые берут начало от механорецепторов легких и верхних дыхательных путей реализуют обратную связь между работой центрального дыхательного механизма и объемом легких (Бреслав, Глебовский, 1981; Widdicombe, 2001). Выяснение закономерностей функционирования этого механизма при различных состояниях организма является одной из фундаментальных проблем физиологии дыхания и нейрофизиологии.

Наличие объемно-зависимой обратной связи в саморегуляции дыхания впервые было обнаружено Герингом и Брейером, которые показали, что инфляция (раздувание) легких эффективно прерывает вдох и пролонгирует выдох, тогда как устойчивая дефляция легких (уменьшение легочного объема) вызывает противоположные эффекты. Показано, что эти рефлексы опосредованы вагальными легочными афферентами, берущими начало от медленно адаптирующихся рецепторов растяжения легких и трахеи. При этом в классическом рефлексе Геринга-Брейера различают инспираторно-тормозящий, и экспираторно-облегчающий механизмы (Widdicombe, 1964), каждый из которых может по-разному реагировать на одно и то же воздействие и вносить свой независимый вклад в изменения параметров дыхательного цикла.

Рефлекс Геринга-Брейера представлен у многочисленных видов млекопитающих (Widdicombe, 1961). У человека он играет особенно важную роль в центральной регуляции респираторного паттерна в период младенчества, у новорожденных и детей в возрасте до одного года. Тем не менее, оба рефлекторных механизма, инспираторный и экспираторный, присутствуют в эупноическом (т.е. в спокойном) дыхании не только детей, но и взрослых. Причем с увеличением дыхательной активности, во время сна, а также при

общей анестезии, чувствительность этих рефлексов усиливается. Значение легочных рефлексов в регуляции дыхания возрастает также при увеличении хеморецепторного драйва и при обструкции дыхательных путей. Установлено, что рефлексы Геринга-Брейера являются одним из интегративных механизмов одновременного нейрогенного усиления активности основных дыхательных мышц и мышц верхних дыхательных путей, что способствует предохранению верхних дыхательных путей от фарингеальной окклюзии при увеличении сопротивления дыханию (Aleksandrova, 2004). Исследование физиологических механизмов реализации и модуляции объемно-зависимой обратной связи в системе регуляции дыхания имеет фундаментальное значение и необходимо для формирования целостного представления о центральных механизмах респираторного контроля.

Одним из современных направлений в области физиологии висцеральных систем является изучение роли цитокинов, нового класса эндогенных полипептидных медиаторов, в механизмах регуляции вегетативных функций организма. В настоящее время цитокины выделяются в новую самостоятельную систему регуляции физиологических функций, тесно связанную с нервной и эндокринной системами регуляции (Симбирцев, 2004). Установлено участие цитокинов, и, в частности, основного провоспалительного цитокина ИЛ-1 $\beta$ , в модуляции центральных механизмов хеморецепторной регуляции дыхания (Aleksandrova, 2015, 2017). Показано, что цитокины взаимодействуют с различными медиаторными системами. Доказано, что ИЛ-1 $\beta$  способен модулировать активность возбуждающих глутаматергических механизмов в ЦНС (Maier, 1998). В то же время известно, что глутамат является медиатором в синапсах, которые образованы афферентами медленно адаптирующихся механорецепторов воздухоносных путей на румр-клетках, расположенных в ядре одиночного тракта (Kubin, 2006; Miyazaki, 2006). Румр-клетки являются нейронами второго порядка в рефлекторной дуге инспираторно-тормозящего рефлекса Геринга-Брейера (Miyazaki, 1999; Vonham, 2006). Получены также экспериментальные данные, указывающие на то, что информация от системных цитокинов в мозг может передаваться вагальными афферентами (Hansenetal 1998; Филиппова, Ноздрачев, 2007). Обнаружено, что ИЛ-1 $\beta$  увеличивает

вагальную афферентную активность (Nijima, 1996). Эти данные позволяют предположить участие ИЛ-1 $\beta$  не только в хемо-, но и в механорецепторных механизмах регуляции дыхания, в которых основная роль отводится изменению афферентной импульсации от механорецепторов легких, поступающей в головной мозг по ветвям блуждающего нерва (рефлексы Геринга-Брейера). В настоящее время показана принципиальная возможность модуляции инспираторно-тормозящего рефлекса Геринга-Брейера эндогенными респираторно-активными пептидами, такими как тиролиберин, гастрин-рилизинг пептид (Инюшкин, 2002; Инюшкина и др., 2009). Однако экспериментальное исследование влияния цитокинов на функционирование обратной объемно-зависимой связи в системе регуляции дыхания до настоящего времени не проводилось.

**Целью** настоящего исследования является изучение нейроиммунных механизмов, участвующих в механорецепторном контроле дыхания.

**Задачи исследования:**

1. Исследование влияния повышенного системного и церебрального уровня провоспалительного цитокина ИЛ-1 $\beta$  на паттерн дыхания у анестезированных спонтанно дышащих крыс.
2. Изучение влияния ИЛ-1 $\beta$  на рефлексы Геринга-Брейера.
3. Изучение роли циклооксигеназных путей в реализации модулирующего влияния ИЛ-1 $\beta$  на паттерн дыхания и рефлексы Геринга-Брейера.
4. Выявление возможного участия нитергических механизмов в реализации респираторно-модулирующего действия ИЛ-1 $\beta$ .
5. Экспериментальное исследование вопроса о возможном влиянии ИЛ-1 $\beta$  на глутаматергические механизмы, вовлеченные в реализацию рефлексов Геринга-Брейера.

**Научная новизна.**

В настоящей работе представлены результаты экспериментального исследования одного из малоизученных вопросов, связанного с изучением участия иммунной системы в регуляции физиологических функций. В работе

впервые получены прямые экспериментальные факты, указывающие на участие нейроиммунных механизмов в рефлекторном контроле респираторной функции. Впервые установлено, что повышение системного или церебрального уровня важнейшего провоспалительного цитокина ИЛ-1 $\beta$  приводит к изменению силы инспираторно-тормозящего рефлекса Геринга-Брейера, реализующего объемно-зависимую обратную связь в системе дыхания. Установлено, что ИЛ-1 $\beta$  влияет на центральные механизмы регуляции дыхания, вызывая увеличение центральной инспираторной активности. Впервые изучены нейрхимические механизмы, реализующие влияние ИЛ-1 $\beta$  на механорефлекторный контур регуляции дыхания. Показано, в частности, что усиление рефлексов Геринга-Брейера, вызываемое повышением системного уровня ИЛ-1 $\beta$ , не проявляется на фоне ингибирования циклооксигеназной или NO-синтазной активности. Этот факт свидетельствует о том, что в основе модулирующих влияний провоспалительных цитокинов на центральные механизмы механорефлекторного контроля дыхания лежит усиление синтеза простагландинов и оксида азота. Получены новые данные, подтверждающие, что провоспалительные цитокины могут модулировать активность возбуждающих глутаматергических механизмов в центральной нервной системе. Установлено, что одним из нейромедиаторных механизмов, реализующих центральные влияния ИЛ-1 $\beta$  на паттерн дыхания и рефлексы Геринга-Брейера, является усиление глутаматергической передачи.

#### **Теоретическая и практическая значимость.**

Результаты настоящей работы способствуют решению фундаментальной проблемы физиологии – изучению роли нейроиммунных взаимодействий в регуляции физиологических функций. Они показывают, что повышение системного или церебрального уровня провоспалительных цитокинов, в частности ИЛ-1 $\beta$ , оказывает влияние не только на основные параметры, характеризующие паттерн дыхания, но и на рефлексы Геринга-Брейера, осуществляющие объемно-зависимую связь в системе дыхания. Это доказывает, что влияние системного воспаления на висцеральные функции может реализовываться через модуляцию их рефлекторной активности. Доказано, что в



реализации обнаруженных эффектов ИЛ-1 $\beta$  участвуют простаноид-зависимые и нитергические механизмы. Таким образом, конкретизируются пути влияния системного воспаления на респираторную функцию. Полученные результаты существенно расширяют и дополняют имеющиеся представления об участии иммунной системы в контроле висцеральных функций.

Исследование влияния гиперцитокинемии на функцию дыхания имеет и практическое значение, т.к. известно, что системный и церебральный уровень провоспалительных цитокинов резко возрастает у больных с хроническими обструктивными заболеваниями легких, синдромом сонного апноэ, а также у здоровых людей при дыхании с добавочным инспираторным сопротивлением. Известно, что для системного воспаления, сопровождающегося гиперцитокинемией 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. У детей с незрелыми произвольными механизмами контроля дыхания, а также у младенцев инфекция усугубляет нерегулярность дыхания и способствует возникновению опасных эпизодов апноэ. Результаты настоящего исследования будут способствовать разработке методов терапии респираторной дисфункции в условиях системного воспаления, а также объективной оценке рисков, связанных с использованием препаратов на основе иммуномодуляторов. Кроме того, результаты исследования могут быть использованы в лекционных курсах по нейрофизиологии и физиологии висцеральных систем.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Повышение системного уровня ИЛ-1 $\beta$  вызывает изменение объёмно-временных параметров дыхания и усиление рефлексов Геринга-Брейера, опосредующих объёмно-зависимую обратную связь в системе дыхания. Это позволяет предполагать, что изменения паттерна дыхания, которые имеют место при системной воспалительной реакции, могут быть следствием гиперцитокинемии, оказывающей воздействие на центральные механизмы регуляции дыхания.

2. Респираторные эффекты ИЛ-1 $\beta$  не проявляются на фоне ингибирования циклооксигеназной активности диклофенаком. Этот факт позволяет утверждать, что в основе модулирующих влияний провоспалительных цитокинов на механорефлекторный контроль дыхания лежит усиление синтеза простагландинов.

3. L-NAME, неспецифический блокатор NO-синтазы, ослабляет потенцирующее действие ИЛ-1 $\beta$  на рефлекс Геринга-Брейера, но не изменяет его влияния на паттерн дыхания. Таким образом, NO-ергические механизмы наряду с циклооксигеназными опосредуют действие ИЛ-1 $\beta$  на рефлекторный механизм регуляции дыхания, но не вовлекаются в реализацию эффектов ИЛ-1 $\beta$  на внутрицентральные механизмы генерации паттерна дыхания.

4. В реализацию респираторных эффектов ИЛ-1 $\beta$  вовлечена глутаматергическая нейромедиаторная система.

#### **Апробация результатов.**

Результаты исследования были апробированы на XII Всероссийской медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина» (Санкт-Петербург, 2009); Межвузовской конференции молодых ученых «Герценовские чтения» (Санкт-Петербург, 2009); VII Всероссийской конференции с международным участием «Механизмы функционирования висцеральных систем» (Санкт-Петербург, 2009); Межвузовской конференции молодых ученых «Герценовские чтения» (Санкт-Петербург, 2010); XII Всероссийской с международным участием школе-семинаре «Экспериментальная и клиническая физиология дыхания» (Санкт-Петербург - Репино, 2013); IX Международном междисциплинарном конгрессе «Наука для медицины и психологии» (Судак, 2013); XXII съезде Физиологического общества им. И.П. Павлова (Волгоград, 2013); Международной научной конференции «Актуальные проблемы физиологии, биофизики и медицины» (Алматы, 2013); XIII Всероссийской молодежной научной конференции Института физиологии Коми НЦ УрО РАН (Сыктывкар, 2014); XI Международном междисциплинарном конгрессе «Наука для медицины и психологии» (Судак, 2015); Всероссийской конференции с международным

участием «Современные проблемы физиологии высшей нервной деятельности, сенсорных и висцеральных систем» (Санкт-Петербург, 2015); XIV Всероссийской с международным участием школе-семинаре «Экспериментальная и клиническая физиология дыхания» (Санкт-Петербург, 2019).

### **Публикации**

Результаты исследования опубликованы в 25 научных работах, из них 7 в ведущих рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ, а также в изданиях входящих в базы Scopus и Web of Science.

### **Личный вклад автора**

Автор лично осуществлял методическую подготовку экспериментов и их проведение, обработку полученных данных, подготовку докладов и публикаций по результатам диссертационного исследования, принимал непосредственное участие в обсуждении полученных результатов.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация состоит из введения, литературного обзора, описания основных экспериментальных методик, пяти глав, содержащих результаты собственных экспериментальных исследований и их обсуждения, общего заключения и списка литературы. Объем диссертации составляет 135 страниц печатного текста, включая 3 таблицы и 22 рисунка. Список цитируемой литературы содержит описание 250 источника, из них 195 работ опубликованы в зарубежных журналах.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРНЫХ ИСТОЧНИКОВ

### 1.1. Основные механизмы регуляции дыхательной системы.

Работа системы дыхания направлена на поддержание постоянства газового состава альвеолярной крови, что обеспечивается поддержанием постоянства состава альвеолярного газа. В свою очередь, постоянство состава альвеолярного газа обеспечивается непрерывной вентиляцией лёгких. Вентиляция лёгких происходит в результате периодического изменения их объёма. Сами лёгкие не способны к активным сокращениям, изменение их объёма происходит пассивно, за счёт изменения давления в грудной полости. Грудная полость замкнута, и изменение давления внутри этой полости осуществляется за счёт периодического изменения её объёма. Изменение объёма грудной полости обеспечивается периодическими сокращениями респираторных мышц. К их числу относятся диафрагма, межреберные мышцы, абдоминальные мышцы, и добавочные мышцы (трапецевидные, лестничные, грудино-ключично-сосцевидные и другие). При спокойном дыхании объём грудной клетки увеличивается в основном за счёт сокращения диафрагмы и перемещения вниз ее купола. Лёгкие, грудная клетка и органы брюшной полости обладают упругостью и, будучи растянутыми или смещёнными при вдохе, стремятся вернуться в исходное положение. Поэтому после вдоха, когда происходит расслабление инспираторных мышц, упругие силы возвращают диафрагму и грудную клетку в исходное положение. Этот пассивный процесс восстанавливает исходный объём грудной полости. При физической нагрузке и произвольной гипервентиляции выдох становится активным, за счёт подключения экспираторных мышц (Ноздрачев и др., 1991).

Поскольку респираторные мышцы являются поперечно-исчерченными, частота и сила их сокращений определяется активностью двигательных нейронов, расположенных на разных уровнях спинного и продолговатого мозга. Однако сами респираторные мотонейроны не являются источником дыхательного ритма. Они лишь воспроизводят ритм, который формируется центральным генератором респираторной активности и передается к ним по

аксонам бульбоспинальных премоторных нейронов. Сила центрального генератора респираторной активности модулируется активностью, исходящей от разных групп хемо- и механорецепторов. Периферические хеморецепторы реагируют на  $pO_2$ ,  $pCO_2$  и pH артериальной крови, а центральные - на  $pCO_2$  и pH ликвора. В регуляции дыхания участвуют механорецепторы, расположенные в воздухоносных путях, в меньшей степени – рецепторы респираторных мышц. Соответственно, принято рассматривать хеморецепторный и механорецепторный контуры регуляции дыхания.

### **1.1.1. Центральный дыхательный механизм.**

#### ***Бульбо-понтинный генератор ритма и респираторные нейроны.***

Дыхательный ритм генерируется автоматически в нервных цепях ствола мозга. Он исключительно гибко подстраивается под метаболические потребности организма, а также сочетается со специфическими видами произвольной и непроизвольной двигательной активности, такими как речь, пение, смех, плач и другие. Подобно другим видам ритмической двигательной активности, таким как, например, ходьба, дыхательные движения формируются в относительно автономных нервных сетях, состоящих из тормозных и возбуждающих нейронов. Эти нейроны взаимодействуют, генерируя в результате скоординированную ритмическую активность респираторных мышц. Сети, образованные этими нейронами, рассматриваются как центральные генераторы паттерна (то есть образа или рисунка) движения. Основной целью изучения генераторов паттернов является понимание того, как свойства отдельных нейронов, образованных ими цепей и факторов, влияющих на эти цепи, определяют свойства конкретного генератора.

В последнее время прогресс в изучении генератора паттерна дыхания определяется интеграцией результатов электрофизиологических, морфологических, генетических и эмбриологических методов. При этом все большее значение приобретает построение компьютерных моделей, в той или иной мере воспроизводящих свойства генератора паттерна дыхания.

Установлено, что сети нейронов, генерирующие дыхательный ритм, при нормальном дыхании располагаются билатерально в продолговатом мозге и в мосту. Считается, что ведущую роль в этих сетях играют тормозные и

возбуждающие нейроны вентральной респираторной группы. Они располагаются в вентральной части продолговатого мозга, образуя сеть, которая и представляет собой центральный генератор паттерна дыхания. Нейроны вентральной группы связаны реципрокными связями с нейронами некоторых ядер моста (Alheid, McCrimmon, 2008; Smith et.al., 2009; Abdala, et.al. 2009), а также с нейронами дорсальной респираторной группы, расположенных в вентральной части ядра одиночного тракта (NTS). В ядре одиночного тракта сходятся афферентные потоки от разнообразных групп рецепторов, чьи афференты проходят в составе блуждающего нерва (Alheid, et.al, 2011). Нейроны дорсальной респираторной группы способны оказывать влияние на работу центрального генератора паттерна дыхания и на активность сетей нейронов моста. Кроме того, на активность центрального генератора паттерна дыхания оказывают многие надстволовые структуры, такие как различные области коры, базальные ядра, мозжечок и гипоталамус. Дыхательный ритм, формирующийся в вентральной респираторной группе, достигает премоторных нейрональных сетей, а затем и краниальных и спинальных мотонейронов, иннервирующих респираторные мышцы.

Согласно современным представлениям, понтинно-медуллярный дыхательный механизм состоит из нескольких иерархически организованных функциональных блоков (Alheid, McCrimmon, 2008; Smith, et.al., 2009), расположенных в росто-каудальном направлении от ростральных частей моста до задней части продолговатого мозга. Это деление на блоки стало результатом изучения свойств респираторных нейронов, содержащихся в каждом блоке и связей между ними.

**Ядра моста.** Включают ядро Кёлликера-Фузе (R-F) и парабрахиальные ядра (PB), образуя респираторную группу моста, которая регулирует смену фаз дыхательного цикла вдох-выдох (Dutschmann, Herbert, 2006). Кроме того, ядро Кёлликера-Фузе содержит премоторные нейроны гортани, регулирующие сопротивление верхних дыхательных путей, а также нейроны проецирующиеся на спинальный уровень и контролирующие активность диафрагмальных мотонейронов.

***Ретротрапециоидально-парафациальная респираторная группа (RTN/pFRG)***. Эта группа нейронов содержит глутаматергические нейроны, экспрессирующие фактор транскрипции гена Phox2b (Dubreuil, et.al., 2009; Thoby-Brisson, et.al., 2009; Stornetta, et.al., 2006), Мутации указанного гена могут приводить к проявлению центрального гиповентиляционного синдрома. Многие из этих, так называемых RTN нейронов демонстрируют ритмическую активность в перинатальный период. У взрослых они проявляют тоническую или респираторно-модулированную активность (Mulkey, et.al., 2004). Кроме того, их активность регулируется  $pCO_2$  и pH ликвора (Mulkey, et.al., 2004), а также активностью периферических хеморецепторов (Takakura, et.al., 2007). Очевидно, что RTN представляют собой центральное звено в механизме реализации хеморецепторной функции (Guyenet, 2008; Guyenet, 2010). У взрослых крыс подгруппа парафациальных нейронов, проявляет ритмическую активность при гиперкапнии (Guyenet, Mulkey, 2010), а также, будучи расторможенной (Pagliardini, et.al., 2011; Molkov, et.al., 2011). Эта же подгруппа нейронов может быть ответственной за сокращения абдоминальных мышц во время активного выдоха.

***Комплекс Бётцингера (BötC)*** содержит по преимуществу экспираторные нейроны (Alheid, McCrimmon, 2008; Smith, et.al.; Burke, et.al., 2010). Глицин- и гамкергические нейроны BötC тормозят инспираторные нейроны и таким образом обеспечивают чередование фаз вдоха и выдоха при нормальном дыхании.

***Комплекс пре-Бётцингера (pre-BötC)*** содержит сети нейронов, образующих ипси – и контрлатеральные проекции (Koizumi, et.al., 2008), которые очень важны для реализации нормальной инспираторной активности. (Feldman, DelNegro, 2006). Эти проекции, которые образованы глутаматергическими нейронами являются важнейшим источником возбуждающего инспираторного драйва. В целом клеточный состав этой структуры отличается неоднородностью. Нейронный состав pre-BötC весьма неоднороден. В нем находят группы глутаматергические нейроны экспрессирующие рецепторы к нейрокинину-1 (NK1R), соматостатину (SST), а также фактор транскрипции протеина (Dbx1), необходимого для развития мозга

(Gray et.al., 2010). Кроме того, здесь же присутствуют субпопуляции инспираторных глицинергических (Winter et.al., 2009) и гамкергических (Kuwana et.al., 2006) нейронов. Эти тормозные нейроны могут обеспечивать торможение экспираторных нейронов во время вдоха. Что касается человеческого pre-BötC, то его ростральная вентральная респираторная группа (rVRG) содержит основной кластер бульбоспинальных премоторных инспираторных нейронов (Alheid, McCrimmon, 2008), передающих инспираторный драйв к спинальным дыхательным мотонейронам, иннервирующим диафрагму. Нейроны rVRG управляются возбуждающими нейронами pre-BötC и тормозятся экспираторными нейронами BötC. Эти входы формируют характерный паттерн нарастающей активности инспираторных rVRG. Каудальная вентральная респираторная (cVRG) группа включает нейроны, возбуждающие бульбоспинальные экспираторные нейроны, на которых конвергируют входы RTN/pFRG и BötC, которые формируют паттерны экспираторного драйва к экспираторным мотонейронам, расположенным в грудных и поясничных сегментах спинного мозга.

**Ядро одиночного тракта (NTS).** Эта структура, расположенная в дорсомедиальной части продолговатого мозга, принимает афференты от легочных механорецепторов, периферических хеморецепторов и других висцерорецепторов. Каудальные части NTS (cNTS) и связанные с ней нейроны дорсальной респираторной группы (DRG) реализуют афферентный контроль дыхания посредством проекций к мосту и VRC (Alheid, et.al., 2008).

**Ядро шва.** Это ядро содержит серотонинергические нейроны, которые участвуют в моторном контроле соматических и висцеральных функций и проецируется к VRC, а также к дыхательным мотонейронам. Эти возбуждающие нейроны (DePuy, et.al., 2011) выделяют серотонин и некоторые пептиды, играющие роль нейромодуляторов, в том числе вещество P, и тиротропин-рилизинг гормон (Richerson, 2008). Некоторые из этих нейронов обладают хемосенсорными свойствами (Richerson, 2008; Ray, 2011). Они участвуют в хемосенсорной регуляции дыхания и его стабилизации (PtakK, et.al., 2009; Ray, et.al., 2011; Hodges, et.al., 2009).



В целом, согласно современным представлениям понтомедуллярная респираторная сеть, которая и представляет собой центральный генератор паттерна дыхания, состоит из иерархически организованных структурно-функциональных блоков, которые расположены в rostro-каудальном направлении, начиная от передней части моста и заканчивая каудальными отделами продолговатого мозга (Alheid, McCrimmon, 2006; Smith, et. al., 2009). К настоящему времени описаны основные связи между этими блоками и установлено, какой тип респираторных нейронов преобладает внутри каждого блока. Для того, чтобы составить представление о функциях каждого блока были проведены эксперименты с развивающимся мозгом (Champagnat, et.al., 2009; Dubreuil, et. al., 2009; Gray, et. al., 2010), нейроморфологические исследования (Alheid, McCrimmon, 2008; Alheid, et. al., 2011; Stornetta, et. al, 2009), опыты с разрушением и удалением определенных частей моста и продолговатого мозга (Janczewski, Feldman, 2006). Кроме того, для выяснения специализации этих блоков и механизмов их взаимодействия были привлечены результаты фармакогенетических (Marina, et. al., 2010) и оптогенетических (Abbott, et. al., 2009;) исследований.

#### ***Фазы дыхательного цикла и активность респираторных нейронов.***

Если рассматривать дыхательный цикл с точки зрения собственно внешнего дыхания или вентиляции лёгких, то он состоит из двух фаз: вдоха и выдоха. Но при рассмотрении его с точки зрения активности респираторных нейронов и дыхательных мышц, выделяют три фазы: инспираторную, постинспираторную (раннюю экспираторную или первую экспираторную) и собственно экспираторную (вторую экспираторную) фазу. Эти три фазы дыхательного цикла проявляются в активности дыхательных мышц и иннервирующих их двигательных нервов (Abdala, et. al., 2009), а также в активности популяций интернейронов, расположенных внутри функциональных блоков вентральной респираторной колонны (Segers, et. al., 2008). Популяции инспираторных интернейронов обнаружены внутри комплекса pre-BötC и в rVRG, а экспираторные нейроны сосредоточены в пределах BotC и cVRG. При этом в комплексе BotC обнаружены пост-инспираторные нейроны (post-I), а

также экспираторные нейроны с нарастающей активностью (aug-E). Нейроны последнего типа находятся и в cVRG.

В настоящее время известно несколько основных типов респираторных нейронов, активность которых привязана к фазам дыхательного цикла. Постинспираторные нейроны (post-I) проявляют максимальную активность в начале постинспираторной фазы, затем их активность постепенно ослабевает и в начале экспираторной фазы (E2) они проявляют очень редкую активность. Экспираторные нейроны с нарастающей активностью (aug-E) начинают разряжаться с малой частотой в конце постинспираторной фазы E1 затем их активность постепенно достигает максимума и резко обрывается в конце фазы E2. Эти два типа нейронов post-I и aug-E располагаются в ядре BötC. Преинспираторно-инспираторные нейроны (pre-I/I) активируются в конце фазы E2. Их активность достигает максимума в начале фазы I, а затем постепенно затухает, прекращаясь к началу постинспираторной фазы. Ранние инспираторные нейроны (early-I) проявляют максимальную активность в начале фазы I, их активность затухает к концу этой фазы. Нейроны типа pre-I/I и early-I обнаруживаются в комплексе pre-BötC и в некоторых других структурах продолговатого мозга. Считается, что нейроны комплекса pre-BötC играют ведущую роль в генерации ритма и инициации вдоха, эта их функция будет более подробно рассмотрена ниже. Наконец, известны нейроны (aug-I), активность которых нарастет во время фазы I, достигая максимума к концу вдоха. Следует отметить, что по своему пространственному расположению различные популяции респираторных нейронов частично перекрываются (Alheid, McCrimmon, 2008; Schwarzacher, et. al., 1995). Для того, чтобы понять, как взаимодействие разных групп инспираторных и экспираторных нейронов приводит к генерации паттернов дыхания, неоднократно строились модели, описывающие работу цепей нейронов, расположенных в VRG. Очевидно, что результатом этого взаимодействия являются координированные перестройки сократительной активности диафрагмы, торакальных мышц и мускулатуры верхних дыхательных путей, в частности мышц глотки, контролирующей сопротивление воздушному потоку, а также других респираторных мышц.

При спокойном дыхании фазы дыхательного цикла и активность респираторных нейронов связаны следующим образом. Во время вдоха (фаза I) нарастающая активность нейронов aug-I, которые являются бульбоспинальными нейронами и управляют активностью диафрагмальных мотонейронов, приводит к сокращению диафрагмы. Активность pre-I/I усиливает тонус подъязычной мышцы, которая иннервируется подъязычным нервом. Увеличение тонуса подъязычной мышцы предотвращает обструкцию глотки во время вдоха. Этому же служит инспираторная активность ветвей блуждающего нерва, иннервирующих голосовую щель и голосовые связки, которые отводятся во время вдоха, сохраняя проходимость дыхательных путей. Постинспираторная фаза (E1) считается критически важной для прекращения вдоха. Во время этой фазы особую роль играет гортань сначала частично сужается, чтобы прервать воздушный поток, и тем самым продлить время для газообмена. Затем гортань вновь расширяется, обеспечивая условия для свободного выдоха. Экспираторная фаза (E2) характеризуется активностью экспираторных бульбоспинальных нейронов, расположенных в комплексе pre-BötC и cVRG, что приводит к умеренному повышению активности внутренних межреберных и абдоминальных мышц.

#### ***Ритмогенез в ядре пре-Бётцигера.***

Установлено, что в комплексе pre-BötC расположена сеть глутаматергических нейронов, связанных билатеральными, реципрокными связями. На постсинаптической мембране этих синапсов располагаются метаботропные рецепторы глутамата (Gray, et. al., 2010; Stornetta, et. al., 2003). При этом часть описываемых нейронов проявляет свойства пейсмейкеров или водителей ритма, самопроизвольно генерируя пачки потенциалов действия во время вдоха (Smith, et. al., 1991; Feldman, DelNegro; 2006). Эти инспираторные нейроны сохраняют свою пейсмейкерную активность после перерезок, отделяющих комплекс pre-BötC от более ростральных частей VRC. Кроме того, эта активность регистрируется на изолированных срезах мозга, где она сохраняется и после выключения тормозных синапсов (Smith, et. al., 1991; Feldman, DelNegro, 2006). Эти и другие данные указывают на то, что в поддержании активности пейсмейкерных нейронов важную роль играют

свойства самих нейронов и возбуждающие связи между ними. Генерация ритмических всплесков активности в сетях возбуждающих интернейронов обеспечивается механизмами регенеративной инициации, терминации и восстановления активности на уровне сети.

Согласно более ранним гипотезам важнейшим процессом на мембранах пейсмейкерных нейронов комплекса pre-BötC является постоянный, медленно инактивирующийся ток ионов натрия ( $I_{NaP}$ ), приводящий к инициации всплесков активности в сети этих нейронов. Считалось, что ритмические разряды иницируются подпороговой потенциалзависимой активацией  $I_{NaP}$ . Его медленная потенциалзависимая инактивация и динамическое взаимодействие с выходящим калиевым током утечки приводит к прекращению всплеска возбуждения. Затем включаются механизмы, устанавливающие интервал между разрядами и запускающие очередную всплеску. Эксперименты на моделях показали, что неоднородные возбуждающие сети нейронов, обладающих описанными свойствами, способны генерировать ритмические разряды в широком диапазоне частот (Purvis, et. al, 2007). Эти модели, учитывающие процессы, приводящие к генерации пачек потенциалов действия отдельными пейсмейкерными нейронами, а также процессы, происходящие в сетях таких нейронов, получили экспериментальное подтверждение (Koizumi, Smith, 2008;). Однако имеющиеся экспериментальные данные противоречивы. Показано, в частности, что блокаторы Na-каналов не оказывают влияния на инспираторный ритм, зарегистрированный на срезах продолговатого мозга мышей (DelNegro, et. al., 2010). Однако инспираторный ритм полностью устраняется теми же блокаторами на изолированных препаратах мозга новорожденных крыс и у молодых крыс в экспериментах *in situ* (Koizumi, Smith, 2008). Установлено, что всплески инспираторной активности, наблюдающиеся при гаспинге и запускаемые гипоксией, также происходят из комплекса и зависят от  $I_{NaP}$  (Paton, et. al., 2006).

Согласно другим представлениям ключевую роль в ритмогенезе играют ионы  $Ca^{2+}$ . В экспериментах на срезах мозга новорожденных мышей было показано, что в генерации пейсмейкерной активности части нейронов pre-BötC принимают участие неселективные катионные каналы, активируемые  $Ca^{2+}$ . Эти

каналы относятся к многочисленному семейству так называемых TRP-каналов. Токи, протекающие через эти каналы, обозначаются как  $I_{CAN}$ . Согласно одной из вновь предложенных моделей, две независимые популяции нейронов, расположенные в комплексе pre-BötC, взаимодействуют и вырабатывают инспираторный ритм. Пейсмейкерные свойства нейронов, относящихся к первой популяции, определяются  $Na^+$ -каналами, через которые протекает ток  $I_{NaP}$ , в мембране нейронов второго типа имеются TRP-каналы, через которые протекает ток  $I_{CAN}$  (Toporikova, Butera, 2011; Thoby-Brisson, Ramirez, 2001). Другая модель предполагает, что сами по себе нейроны комплекса pre-BötC пейсмейкерными свойствами не обладают, а возникновение ритма происходит за счёт работы TRP-каналов и особенностей взаимодействия нейронов внутри пейсмейкерной сети. Предполагается, что механизм генерации ритма зависит от активации синаптических ионотропных и метаботропных (типа mGluR1/5) глутаматных рецепторов (DelNegro, et. al., 2010). По-видимому, метаботропные рецепторы глутамата инициируют выделение вторичного мессенджера инозитол-3,4,5-трифосфата ( $IP_3$ ). В свою очередь  $IP_3$  вызывает выделение  $Ca^{2+}$  из внутриклеточных депо (Toporikova, Butera., 2011; DelNegro, et. al., 2011). Ионы  $Ca^{2+}$  увеличивают проводимость TRP-каналов и вызывают деполяризующий ток  $I_{CAN}$ , инициирующий разряд инспираторных нейронов (Toporikova, Butera., 2011). Предполагается, что через короткое время деполяризация, нарастающая вследствие  $I_{CAN}$ , приводит к инактивации  $Na^+$ -каналов, обеспечивающих генерацию потенциалов действия, и вспышка активности затухает. Правда, имеются данные и против ключевой роли метаботропных рецепторов глутамата в этих процессах (Ben-Mabrouk, et. al., 2012).

### ***Реципрокное торможение и смена фаз дыхательного цикла.***

В процессе генерации дыхательного цикла координация его фаз обеспечивается взаимодействием между возбуждающей нервной сетью, расположенной в комплексе pre-BötC, и тормозными сетями (Richter, Spyer, 2001). Эти тормозные сети локализованы в пределах комплексов pre-BötC и BötC. Глицинергические и ГАМКергические инспираторные (early-I) нейроны были обнаружены в комплексе pre-BötC, в комплексе BötC нашли экспираторные (post-I и aug-E) нейроны (Winter, et. al., 2009; Morgado-Valle, et.

al., 2010; Kuwana, et. al., 2006; Schreihof, et. al., 1999). Установлено, кроме того, что нейроны типа post-I и aug-E реципрокно тормозят друг друга. Результаты компьютерного моделирования, учитывающего процессы, происходящие на уровне мембран и в сетях нейронов, доказывают необходимость тормозного взаимодействия между указанными нейронами для генерации трехфазного паттерна дыхания (Rybak, et. al., 2007; Shevtsova, et. al., 2011). Доказано, что свойства возбуждающих сетей нейронов pre-BötC не могут обеспечить прекращение их инспираторного возбуждения. Поэтому торможение, развивающееся в конце вдоха и в постинспираторной фазе, играет основную роль в прекращении вдоха, в то время как ускользание из-под торможения и разряды pre-I/I возбуждающих интернейронов в конце выдоха управляют включением вдоха.

### **1.1.2. Хеморецепторный контур регуляции дыхания.**

Одну из ключевых ролей в регуляции дыхания играют хеморецепторы. Хеморецепторами называются рецепторы, реагирующие на изменение химического состава омывающей их крови или иной жидкости. Данные рецепторы посылают афферентную импульсацию в дыхательный центр, который учитывая эти потоки, регулирует легочную вентиляцию. В настоящее время выделяют периферические и центральные хеморецепторы, координированная работа, которых позволяет оптимизировать адаптивные возможности респираторной системы.

К центральной хеморецепторной группе относятся вентральной поверхности продолговатого мозга - центральными (медуллярными, бульбарными) хеморецепторами, воспринимающими изменения рН и  $P_{CO_2}$  спинномозговой жидкости и внеклеточной жидкости мозга, а, следовательно, и артериальной крови, снабжающей мозг (Guyenet, 2010; Шмид и Тевс, 2005; Onimaru, 2003;). Также хеморецепторы обнаружены в районе дна четвертого желудочка, группы нейронов вблизи голубоватого места, клетки каудальных участков лицевого и тройничного нервов, серотонинергические нейроны ядер шва (Шмид и Тевс, 2005; Onimaru, 2003).

Группа периферических хеморецепторов образована каротидными и

аортальными телами (клубочками и гломерулами), где заключены периферические (артериальные) хеморецепторы, возбуждающиеся при снижении напряжения  $O_2$ , росте напряжения  $CO_2$  и концентрации  $H^+$  в омывающей их крови;

### *Строение и функции центральных хеморецепторов.*

Две основные зоны химической чувствительности расположены на вентролатеральной поверхности продолговатого мозга (Бреслав, Ноздрачев, 2005). Одна из них локализована латеральнее пирамидных трактов и каудальнее нижней границы моста - зона М (ростральная группа), другая - медиальнее корешков подъязычных нервов - зона L (каудальная группа) (Песков, Пятин, 1988; Бреслав, Пятин, 1994; Natti, 1995; Ballantyn, Scheid, 2001). В этих же областях есть структуры, которые отвечают не только за дыхание, но и кровообращение, что наверняка позволяет координировать обе функции при поддержании гомеостаза. Хемочувствительные структуры, представленные типичными нейронами, залегают на глубине от 8 до 500 мкм от поверхности мозга (Ноздрачев и др., 1991).

Между указанными выше хемочувствительными зонами М и L обнаружено поле S, обладающее особыми свойствами. Блокирование этого поля холодом или его коагуляция ведет к тому же эффекту, что и выключение хемочувствительных областей - угнетению инспираторной активности с появлением непрерывных разрядов экспираторных нейронов, а в дальнейшем может наступить даже прекращение дыхательных движений. Очевидно, в этой зоне залегают афферентные пути, связывающие медуллярные хеморецепторы с дыхательным центром.

Относительно недавно была описана также роль периваскулярных нейронов, расположенных гораздо глубже выше изложенных групп. Как показали исследования Oyama и др. 1998, эти нейроны реагируют на локальное понижение рН. Также к ацидозу оказались чувствительны и серотонинергические нейроны других областей заднего мозга (Nattie, 2002; Richerson et al., 2001; Менакер, 2008).

Адекватным раздражителем для медуллярных хеморецепторов считают величину рН во внеклеточной жидкости мозга (Бреслав, Ноздрачев, 2005), который зависит от  $P_{CO_2}$  в артериальной крови. Известно, что  $H^+$  и  $HCO_3^-$  слабо

проницаемы для гематоэнцефалического барьера в отличие от  $\text{CO}_2$ , который свободно диффундирует из капилляров в жидкости мозга и приводит к понижению рН. У человека снижение рН ликвора на 0,01 сопровождается ростом легочной вентиляции на 4 л/мин. При повышении концентрации водородных ионов внеклеточной жидкости М и L зон увеличивается активность инспираторных нейронов и падает активность экспираторных нейронов ретикулярной формации продолговатого мозга. Снижение концентрации  $\text{H}^+$  дает обратный эффект (Бреслав, Глебовский, 1981).

Латентные периоды реакций центральных хеморецепторов в целом больше, чем для артериальных, за счет задержки, обусловленной временем диффузии раздражителей из крови в ликвор и внеклеточную жидкость мозга.

Действие, аналогичное увеличению кислотности среды, оказывает локальное введение ацетилхолина. Это дало основание предположить, что в центральной хеморецепции участвует холинергический механизм.

Центральные хемочувствительные зоны являются основными источниками хеморецепторного драйва, который оказывает прямое влияние на вентиляторные реакции и поддержания ритмической активности центрального генератора паттерна.

### ***Строение и функции периферических хеморецепторов.***

Периферические хеморецепторы расположены в двух зонах артериального русла: каротидный синус и аортальные тела.

***Каротидный синус.*** Данное образование является важнейшим из периферических зон хеморецепции, оно расположено в области бифуркации общей сонной артерии, между наружной и внутренней сонными артериями. Оно заключено в соединительнотканную капсулу и обильно пронизано капиллярами и нервными окончаниями.

За счет хорошей васкуляризации каротидный синус имеет хороший кровоток, в его тканях поддерживается  $\text{pO}_2$  практически на уровне артерий. Клетки 1 типа синуса - «главные», эпителиальные по происхождению, содержат характерные гранулы. Их окружают клетки 2 типа - мелкие, интерстициальные. Они гомологичны глиальным и оплетают своими отростками клетки 1 типа. С последними контактируют окончания синусного нерва (нерв Геринга) - ветви



языкоглоточного нерва. При дефиците  $O_2$  эти клетки теряют свои гранулы, а при хронической гипоксии - гипертрофируются. Хеморецепторная активность каротидного гломуса при разрушении клеток 1 типа исчезает, хотя и сохраняется после дегенерации имеющихся здесь нервных терминалей, которые служат передатчиками возбуждения гломусных клеток.

Хеморецепторы синокаротидной зоны - уникальные сигнализаторы дефицита кислорода во внутренней среде организма. Менее важное значение имеет их чувствительность к гиперкапнии и ацидозу. Таким образом, они участвуют в поддержании эупноэ (Gregory M. Blain, et. al., 2010; Mouradian, et. al., 2012). Механизм действия импульсации синокаротидных хеморецепторов заключается в возбуждении инспираторных нейронов и задержке выключения вдоха, т.е. оказывает на центральные структуры действие, противоположное импульсации рецепторов растяжения легких (Сафонов, Ефимов, 1980).

Динамика восстановления импульсации синусного нерва и дыхания у кошек после гипервентиляционного апноэ показала: чтобы вызвать инспираторную активность, возбуждение самих хеморецепторов должно достичь определенного уровня. Иначе говоря, пороговые значения изменений  $P_{O_2}$  и  $P_{CO_2}$  для стимуляции каротидного тела меньше, чем для вентиляторной реакции.

Вентиляторные реакции проявляются через 5-15 с после начала вдыхания гипоксической или гиперкапнической газовой смеси. Доля латентных периодов самих хеморецепторов здесь невелика: сюда входит время конвекции и диффузии газов в легких, прохождения крови от альвеол до каротидных синусов, а также время передачи возбуждения в центральном звене хеморефлекторной дуги. Дыхательный центр реагирует на стимуляцию периферических хеморецепторов увеличением дыхательного объема. Однако эта реакция наблюдается лишь при условии стимуляции каротидных рецепторов во время вдоха или в конце выдоха. В фазе выдоха дыхательный центр мало реактивен (Бреслав, Глебовский, 1981).

#### ***Аортальные тела.***

Важная особенность функции артериальных хеморецепторов - положительное взаимодействие гипоксического и гиперкапнического стимулов. По своей микроструктуре и функциям они сходны с каротидными телами, но представляют собой чрезвычайно мелкие скопления клеток. Они в большей

степени чувствительны к напряжению кислорода и в меньшей к ацидозу и гиперкапнии. Эти скопления образуют 3 группы: над дугой аорты между правой подключичной и правой общей сонной артериями; между левой подключичной и левой общей сонной артериями; под дугой аорты - между ней и легочной артерией. Особенности функции хеморецепторов аортальной зоны из-за их физиологической малозначимости (Berger, 2000) изучены недостаточно. Артериальные хеморецепторы расположены в тех же зонах, где локализованы и барорецепторы – в аортальной и синокаротидной. Это вполне объяснимо, т.к. и хемо-, и барорецепторы в конечном итоге контролируют через посредство регуляции легочной вентиляции и гемодинамики снабжение организма кислородом. Правда, между двумя рецепторными зонами существуют функциональные различия. В регуляции дыхания важную роль играет каротидное тело. Для регуляции же сосудистого тонуса важнее аортальные барорецепторы. Тесная взаимосвязь дыхания и кровообращения как звеньев единой системы транспорта газов выражается также и в том, что артериальные хеморецепторы участвуют в регуляции не только вентиляции, но и циркуляции крови. При выключении синокаротидных хеморецепторов ослабевает сердечно-сосудистая реакция на гипоксию. Участие в регуляции кровообращения еще больше выражено у аортальных хеморецепторов: после их выключения указанная реакция вообще исчезает.

Функции центральных и периферических хеморецепторов постоянно дополняют друг друга и, в общем, проявляют синергизм. Хеморецепторам каротидной и аортальной зон присуща особая защитная функция - реакция на недостаток кислорода в крови; при нормальных условиях внешней среды они не играют заметной роли в регуляции дыхания.

#### ***Механизм хеморецепторной регуляции паттерна дыхания.***

Выше указывалось, что хеморецепторная импульсация — необходимое условие поддержания центральной инспираторной активности (ЦИА) и главный ее регулятор. Основную роль при этом играет гиперкапническая стимуляция, способствующая учащению импульсации как инспираторных, так и экспираторных нейронов. Так, в условиях гипокапнии ритмическая активность инспираторных нейронов вообще исчезает. Общий механизм

действия хеморецепторного драйва на дыхательный ритмогенез заключается в сочетании увеличения скорости нарастания ЦИА и увеличения порога выключения вдоха. В итоге происходит как углубление, так и учащение дыхания. Правда, при постоянном уровне стимуляции величина ЦИА варьирует меньше, чем длительность вдоха, что свидетельствует о различии механизмов, регулирующих генерацию ЦИА и инспираторное выключение (Ефимов, Сафонов, 1987).

Эффект активации хеморецепторных афферентов каротидного тела имеет свои особенности. Его латентный период относительно мал по сравнению с ответом на стимуляцию медуллярных хеморецепторов. Поэтому при острой гипоксии перестройки паттерна дыхания наступают скорее, чем при гиперкапнии, причем гипероксия, как известно, ослабляющая активность артериальных хеморецепторов, замедляет реакцию на  $\text{CO}_2$ . Но каким бы фактором ни была вызвана стимуляция артериальных хеморецепторов — острой гипоксией или гиперкапнией — характерно, что вначале вдох удлиняется, а затем, на 2—3-м циклах, укорачивается (Глебовский, 1973).

В стимуляции хеморецепторов участвуют естественные дыхательные осцилляции  $P_{\text{CO}_2}$ ,  $P_{\text{O}_2}$  и  $p\text{H}$  крови, которые в свою очередь зависят от структуры дыхательного цикла. С помощью такой своеобразной обратной связи паттерн дыхания в какой-то степени сам себя регулирует. Но в еще большей степени, чем амплитуда осцилляции, здесь важна их крутизна, а этот показатель возрастает в условиях гиперкапнии и гипоксии, где он может служить добавочным фактором хеморецепторной стимуляции дыхания (Сафонов, Ефимов, 1987).

Особую роль функции артериальных хеморецепторов некоторые исследователи видят в регуляции длительности выдоха. У бодрствующих или спящих собак с блокированными блуждающими нервами одиночный вдох гиперкапнической смеси сопровождался укорочением последующего выдоха, которое было пропорционально концентрации  $\text{CO}_2$  во вдыхаемой смеси. После денервации каротидных тел этот эффект исчезал. Следовательно, заключают авторы, каротидные хеморецепторы участвуют в регуляции наступления очередного вдоха (и тем самым — в контроле длительности выдоха).

Латентный период реакции медуллярных хемочувствительных зон

значительно больше, чем артериальных хеморецепторов, поэтому те сдвиги паттерна, которые происходят быстро, вызываются, очевидно, стимуляцией последних, а относительно медленные сдвиги можно приписать стимуляции центральных хемочувствительных структур.

По некоторым сведениям, повышение концентрации водородных ионов во внутренней среде — адекватный раздражитель медуллярных хеморецепторов — способствует именно углублению дыхания, в то время как гипоксический фактор вызывает его учащение. В опытах на кроликах ингаляция смеси 6.4% CO<sub>2</sub> в воздухе сопровождалась учащением дыхания. После денервации синокаротидной и аортальной зон та же смесь вызывала сначала урежение дыхания (за счет удлинения вдоха), которое лишь через несколько минут сменялось его небольшим учащением. В таких условиях охлаждение животного, снижавшее возбудимость центральных структур, вело к уменьшению частоты дыхательных циклов и активности диафрагмального нерва. Из этих фактов сделали вывод, что периферические хеморецепторы регулируют частоту, а центральные — глубину дыхания. Действительно, локальное охлаждение промежуточного поля I (S) на вентральной поверхности продолговатого мозга (где, по-видимому, проходят проводящие пути от хеморецепторных структур) вызывало у наркотизированных кошек падение дыхательного объема или его электрофизиологического эквивалента, получаемого при регистрации активности диафрагмального нерва. Сходный эффект давала гипокапния. Правда, непосредственное раздражение хемочувствительных зон продолговатого мозга наркотизированных крыс подкисленными растворами или электрическим током вызывало увеличение не только дыхательного объема, но и частоты дыхательных циклов. Однако частотный эффект в данном случае мог быть целиком опосредован рефлексом Брейера—Геринга; у ваготомированных кошек внутривенное вливание раствора HCl не учащало, а уряжало дыхательные разряды диафрагмального нерва. Во всяком случае, исследования на кошках показали линейную связь между концентрацией водородных ионов во внеклеточной жидкости мозга в области центральных хеморецепторов и дыхательным объемом. Эта закономерность подтверждается тем фактом, что у человека метаболический ацидоз сопровождается увеличением, а

метаболический алкалоз — уменьшением дыхательного объема без существенных изменений частоты дыхания. Тем не менее, можно считать доказанным участие медуллярных хемочувствительных зон и в регуляции частотных параметров дыхания (Уэст, 1988).

Совместное влияние на паттерн дыхания со стороны артериальных и медуллярных хеморецепторов носит непростой характер. Здесь надо учесть, что гипоксический фактор, стимулирующий дыхательный центр рефлекторно, вместе с тем, действуя непосредственно на центральные структуры, в том числе хемочувствительные, угнетает их активность. В перестройках паттерна дыхания, происходящих под влиянием хеморецепторной стимуляции, существенную роль играет объемно-зависимая обратная связь, опосредованная рецепторами растяжения легких. Импульсация этих рецепторов способствует выключению ЦИА, причем порог такого выключения снижается к концу вдоха. На наркотизированных кошках показано, что рост  $P_{CO_2}$  альвеолярного газа снижает порог активации рецепторов растяжения легких, что способствует укорочению вдоха. (Бреслав, Глебовский, 1981).

По-видимому, важную роль в увеличении дыхательного объема на хеморецепторные стимулы играют структуры каудальной части моста, где, по мнению некоторых авторов, эти стимулы интегрируются с вагусными влияниями.

### **1.1.3. Механорецепторный контур регуляции дыхания.**

Обеспечение управления легочной вентиляции осуществляется не только за счет соответствия потребностям метаболизма, но и с помощью оптимального режима работы респираторных мышц. Главным звеном этой функции является механорецепторный вход в центральный регулятор дыхания.

Данный сенсорный вход представлен механорецепторами легких, воздухоносных путей и проприорецепторами дыхательных мышц. Рефлексы с названных рецепторов выполняют роль обратных связей между центральным регулятором дыхания и эффектором — респираторной мускулатурой; они относятся к собственным рефлексам дыхательного аппарата (Глебовский, 1973).

#### ***Механорецепторы легких и воздухоносных путей.***

Иннервация респираторной системы в основном осуществляется блуждающим нервом. Центростремительные волокна его легочной ветви служат афферентными путями для рецепторов разной модальности. Сюда относятся рецепторы растяжения легких, реагирующие на механические стимулы, ирритантные и юксталегочные рецепторы, чувствительные и к некоторым раздражителям химического характера (Глебовский, 1973; Sant-Ambrogio, 2001; Widdicombe, 2001).

*Медленноадаптирующиеся рецепторы дыхательных путей (рецепторы растяжения легких)* расположены между гладко-мышечными волокнами стенок трахеобронхиального дерева.

Причем рецепторы в крупных внелегочных воздухоносных путях, реагируют преимущественно на увеличение объема легких, а рецепторы мелких бронхов чувствительны к скорости изменений этого объема (Жданов, 1978).

Медленно адаптирующиеся рецепторы растяжения реагируют на изменения механического напряжения мышечной стенки и их активация обеспечивает рефлекс Геринга-Брейера (рефлекс прерывания вдоха). Быстро адаптирующиеся рецепторы возбуждаются механическими и химическими стимулами, реагируя на скорость воздушного потока, они участвуют в регуляции дыхательного цикла, а реагируя на химические вещества – в рефлексе кашля (Федин, Ноздрачев, Бреслав, 1997; Widdicombe, 2006). Кроме того, в дыхательных путях описаны нейроэпителиальные клетки, активируемые гипоксией (Broun et.al., 2002).

Активность трахеобронхиальных рецепторов может подавляться рядом фармакологических веществ, и чувствительность к ним разных типов рецепторов различается.

Медленно адаптирующиеся рецепторы представляют собой чувствительные ветвящиеся нервные окончания, расположенные в гладкомышечной ткани, в подслизистом слое и эпителии (Лашков, 1963). Их распространение на протяжении дыхательных путей неравномерно, наибольшая концентрация отмечена в области корня легкого и на внегрудной части трахеи. Эти рецепторы связаны с наиболее крупными афферентными волокнами блуждающего нерва и могут контактировать с нейронами дорсального

дыхательного ядра (Федин, Ноздрачев, Бреслав, 1997). Они участвуют в рефлекторных реакциях нижних дыхательных путей, в том числе и в кашлевом рефлексе (Sant'Ambrogio et. al., 1984). Низкопороговые медленно адаптирующиеся рецепторы передают в дыхательный центр информацию, в основном, об объеме легких. Высокопороговые реагируют на скорость изменения объема легких, то есть на скорость прохождения воздушного потока. Вероятнее всего, что «скоростные» рецепторы расположены в крупных воздухоносных путях, а «объемные» - в мелких (Федин, Ноздрачев, Бреслав, 1997).

Раздражение медленно адаптирующихся рецепторов ведет к снижению сопротивления воздухоносных путей потоку воздуха. Сопротивление уменьшается во время вдоха, когда усиливается раздражение рецепторов, и увеличивается во время выдоха. Расслабление гладкой мышцы наблюдается при раздражении низкопороговых афферентов блуждающего нерва, что приводит к увеличению объема трахеи и бронхов (Misava et.al., 1990).

После выключения афферентной импульсации из РРЛ путем их блокады или ваготомии вдохи становятся резко затянутыми. Следовательно, данные рецепторы совместно с пневмотаксическим комплексом моста участвуют в регуляции соотношения между объемными и временными параметрами дыхательного цикла, предохраняя легкие от перерастяжения и способствуя формированию оптимального паттерна дыхания.

***Ирритантные рецепторы*** (быстроадаптирующиеся механорецепторы) расположены в эпителиальном слое стенки воздухоносных путей. Они реагируют на резкие изменения объема легких, а также на гистамин и некоторые другие химические агенты. Наиболее заметными реакциями, опосредованными этими рецепторами, является быстрый вдох в ответ на спадение легких и защитные рефлексы – кашель и бронхоспазм (Бреслав, Ноздрачев, 2005).

***J-рецепторы*** (юктаальвеолярные рецепторы капилляров) расположены в интерстиции. В тесном соседстве с респираторными бронхиолами, а также альвеолярными и бронхиальными сосудами. Раздражение этих рецепторов проявляется в виде тахипноэ (частое и поверхностное дыхание), вызываемое застоем крови в легочных микрососудах.

Таким образом, бронхолегочный рецепторный аппарат в основном выполняет роль обратной связи, с помощью которой ЦГП управляет сокращением респираторных мышц.

### **Проприорецепторы дыхательных мышц.**

Респираторная мускулатура относится к скелетной, однако, функция ее проприорецепторов специфична и неоднородна, если, например, сравнить диафрагму с другими дыхательными мышцами (Исаев, 1994).

Рецепторы диафрагмы представлены в основном сухожильными рецепторами растяжения. Эти рецепторы возбуждаются на вдохе, тормозя активность диафрагмальных мотонейронов и не играют значительной роли в автономной регуляции легочной вентиляции. Вместе с тем рецепторы диафрагмы участвуют в формировании дыхательных ощущений.

Рецепторы межреберных мышц, наоборот, играют роль в управлении дыхательными движениями важную роль благодаря большому количеству в них интрафузальных волокон, которые подобно РРЛ являются медленноадаптирующимися механорецепторами и реагируют на растяжение мышц, повышая их тонус.

Дыхательный рефлекс осуществляется на спинальном уровне при вдохе одновременно возбуждаются сегментарные альфа- и гамма-мотонероны. Если вследствие какого-либо препятствия к сокращению мышцы наступает рассогласование длины экстра- и интрафузальных волокон, то мышечные волокна усиливают возбуждение альфа-мотонейрона. В результате усиливается сокращение экстрафузальных мышечных волокон, которые тем самым стремятся восстановить нарушенное соответствие между своей длиной и длиной интрафузальных волокон (Бреслав, Ноздрачев, 2005).

Таким образом, сила сокращений дыхательных мышц регулируется согласно величине сопротивления воздуху и (или) выдоху. Веретена можно рассматривать как часть “следающей серверсистемы” (Глебовский, 1973), обеспечивающей компенсацию нагрузок на вентиляторный аппарат.

Рецепторы мышц брюшной стенки могут выполнять ту же функцию, что и механорецепторы экспираторных мышц, участвуя в регуляции выдоха во время форсированного дыхания.



## **1.2. Объемно зависимая обратная связь в системе дыхания.**

Периодической деятельности дыхательного центра способствуют сигналы, поступающие от механорецепторов лёгких по афферентным волокнам блуждающих нервов. После перерезки данных волокон, дыхание у животных становится более редким и глубоким, при этом инспираторная активность продолжает нарастать с прежней скоростью до нового, более высокого уровня. Следовательно, афферентные сигналы, поступающие от лёгких, обеспечивают смену вдоха на выдох раньше, чем это делает дыхательный центр, лишённый обратной связи с лёгкими. После перерезки блуждающих нервов удлиняется фаза выдоха. Отсюда следует, что импульсы от рецепторов лёгких способствуют и смене выдоха вдохом, укорачивая фазу экспирации (Косицкий, 1985).

### **1.2.1. Рефлексы Геринга-Брейера.**

В 1868 году немецкие физиологи Э. Геринг и И. Брейер обнаружили, что частота и глубина дыхания зависит от степени растяжения лёгких. Таким образом, было впервые установлено, что деятельность дыхательного центра зависит от изменений объема легких. В дальнейшем эта зависимость была исследована более подробно. К настоящему времени установлено, что на частоту и глубину дыхания влияет как увеличение, так и уменьшение объёма лёгких. Увеличение объема легких вызывает три рефлекторных эффекта. Во-первых, раздувание легких при вдохе может его преждевременно прекратить (инспираторно-тормозящий рефлекс Геринга-Брейера). Во-вторых, раздувание легких при выдохе задерживает наступление следующего вдоха, удлиняя фазу экспирации (экспираторно-облегчающий рефлекс Геринга-Брейера). В-третьих, достаточно сильное раздувание легких может вызвать короткое (0,1—0,5 с), сильное возбуждение инспираторных мышц, возникает судорожный вдох — «вздых» (парадоксальный эффект Хэда) (Бреслав, Глебовский, 1981). Уменьшение объема легких обуславливает усиление инспираторной активности и укорочение выдоха, т.е. способствует наступлению следующего вдоха (рефлекс на спадение легких).

Таким образом, деятельность дыхательного центра зависит от изменений объёма лёгких. Рефлексы Геринга и Брейера обеспечивают так называемую

объёмную обратную связь дыхательного центра с исполнительным аппаратом дыхательной системы.

### ***Инспираторно-тормозящий рефлекс.***

Инспираторное торможение носит название *инспираторно-тормозящего рефлекса Геринга-Брейера*. Этот рефлекс проявляется в том, что при достижении лёгкими во время вдоха определённого объёма центральная инспираторная активность резко уменьшается. Тормозящий рефлекс возникает вследствие усиления раздражения медленноадаптирующихся рецепторов растяжения легких. Основанием для этого вывода является соответствие свойств рецепторов и рефлекса. Торможение выражается в уменьшении частоты и силы сокращений инспираторных мышц. Интенсивность торможения пропорциональна увеличению объёма легких вплоть до остановки дыхания. Торможение при длительном раздувании устойчиво, его продолжительность ограничивается развивающейся асфиксией. Если асфиксия исключена, апноэ может продолжаться очень долго - более 25 мин. Выключение тормозящего рефлекса ваготомией обуславливает углубление вдохов и увеличение их продолжительности. Величина легочной вентиляции: после ваготомии в покое меняется мало, а альвеолярная вентиляция увеличивается. Перерезка одного блуждающего нерва сопровождается относительно слабыми изменениями дыхания, которые компенсируются через полчаса - час. Значение этого рефлекса состоит в том, что он регулирует глубину вдоха, предотвращает перерастяжение легочной ткани.

Смене дыхательных фаз, т. е. периодической деятельности дыхательного центра, способствуют сигналы, поступающие от механорецепторов легких по афферентным волокнам блуждающих нервов. После перерезки блуждающих нервов, выключающей эти импульсы, дыхание у животных становится более редким и глубоким. При вдохе инспираторная активность продолжает нарастать с прежней скоростью до нового, более высокого уровня. Значит афферентные сигналы, поступающие от легких, обеспечивают смену вдоха на выдох раньше, чем это делает дыхательный центр, лишенный обратной связи с легкими. После перерезки блуждающих нервов удлиняется и фаза выдоха. Отсюда следует, что импульсы от рецепторов легких способствуют и смене выдоха вдохом,

укорачивая фазу экспирации.

У животных торможение отчетливо выражено при расширении легких в пределах дыхательного объема. Поэтому перекрытие трахеи, которое ограничивает дыхательные изменения объема легких, немедленно сопровождается реакцией дыхательного центра. При перекрытии трахеи на выдохе преобладает усиление вдохов, при перекрытии на высоте вдоха — удлинение выдохов. Имеются данные о том, что импульсы рецепторов растяжения легких не влияют на скорость развития вдоха, а лишь прерывают его в определенный момент. Сильные раздувания легких вызывают или усиливают возбуждение экспираторных мышц; это явление развивается после скрытого периода и постепенно.

Небольшие по силе раздражения центрального отрезка блуждающего нерва при низкой частоте (15—20 в 1 сек.) вызывают слабые инспираторные реакции. Чтобы вызвать экспираторную остановку дыхания, требуется увеличить частоту стимулов до 100—250 в 1 сек. Сильные раздражения независимо от частоты приводят к сильным инспираторным реакциям: остановке на вдохе или учащению дыхания. Регистрация суммарных потенциалов действия блуждающего нерва позволила прийти к заключению, что условием появления торможения дыхания является возбуждение волокон группы А ( $\alpha$  и  $\beta$ ). Торможение вызывается только достаточно частыми афферентными импульсами. Следовательно, торможение возникает при условии временной суммации в центре. При сильных раздражениях возбуждаются волокна группы А ( $\gamma$ ), В и С, обуславливающие инспираторные реакции.

По теории Гесса, изменения объема легких влияют на дыхание не прямо, а через изменения тонуса дыхательных мышц, прежде всего диафрагмы. При увеличении тонуса глубина дыхания уменьшается, частота увеличивается, при ослаблении тонуса — наоборот. Однако эта теория не получила достаточных подтверждений. У человека и ряда животных постоянный тонус диафрагмы слаб или отсутствует; как при эйпноэ, так и при гиперпноэ ЭМГ диафрагмы в конце экспираторной паузы свободна от потенциалов действия.

Рефлекторные влияния растяжения легких не ограничиваются глубиной и частотой дыхания. Они могут вызывать ослабление импульсации в легочных и

трахеальных парасимпатических волокнах, снижение тонуса гладких мышц бронхов и трахеи. Возможно уменьшение частоты сердцебиений и снижение артериального давления, хотя описаны и противоположные реакции. Отмечено рефлекторное сужение сосудов легких. Возможно влияние импульсов рецепторов растяжения легких на рефлекторные сокращения скелетных мышц и пищеварительную систему.

***Экспираторно-облегчающий рефлекс Геринга-Брейера.***

В настоящее время наиболее распространена гипотеза, согласно которой длительность выдоха определяется активностью «механизма выключения вдоха». Предполагают, что после окончания вдоха его возбуждение постепенно слабеет. Иначе говоря, генератор инспираторного возбуждения освобождается от тормозящего действия и в определенный момент начинается следующий вдох (Кнох, 1973; Бреслав, Глебовский, 1981). Предполагается, что «инспираторно – тормозящий Ф-процесс» экспоненциально убывает по ходу экспирации (Cohen, Feidman, 1977, цит. по Бреслав, Глебовский, 1981). Данные о действии импульсов рецепторов растяжения во время выдоха соответствуют этой гипотезе. Они могут суммироваться с возбуждением механизма, выключающего вдох. Усиленное возбуждение, затухающее с прежней скоростью, позже достигнет уровня, необходимого для начала вдоха.

Рефлекс, выражающийся в удлинении экспираций, предложено называть «экспираторно-облегчающим» (Cohen, Feidman, 1976, цит. по Бреслав, Глебовский, 1981).

Примером значения экспираторно-облегчающего рефлекса при спонтанном дыхании может служить увеличение  $T_E$  в ответ на изменения сопротивления току воздуха во время выдоха. У бодрствующих кошек с хронической трахеостомой как открытие, так и закрытие трахеостомы сопровождалось увеличением  $T_E$ . Открытие трахеостомы (снижение сопротивления) включало механизмы, уменьшающие скорость экспираторного тока воздуха. Закрытие трахеостомы (увеличение сопротивления) тоже уменьшало скорость тока. В обоих случаях в каждый момент выдоха объем легких был выше, чем до воздействия. Увеличение  $T_E$ , вероятно, имело причиной усиление возбуждения

рецепторов растяжения легких (Remmers, Bartlett, 1977, цит. по Бреслав, Глебовский, 1981).

Важно отметить значение рецепторов растяжения легких в стимуляции сокращений экспираторных мышц, т. е. в появлении активных выдохов. Активные выдохи возникают при гиперпноэ, вызванном, в частности, гиперкапнией (Campbell et.al., 1970). При гиперкапнии происходит усиление возбуждения экспираторных нейронов вентрального дыхательного ядра (Бреслав, Глебовский, 1981).

Это говорит о том, что экспираторная часть вентрального дыхательного ядра получает возбуждающий вход от хеморецепторов (Бреслав, Глебовский, 1981). Кроме того, возбуждение экспираторных нейронов облегчается импульсами рецепторов растяжения легких. Частота разрядов многих из этих нейронов, в особенности бульбоспинальных, увеличивается при раздувании легких (Бреслав, Глебовский, 1981). Соответственно, раздувание легких усиливает экспираторную активность внутренних межреберных мышц (Глебовский, 1962) и косых мышц живота. Эти реакции ослабевали или исчезали после ваготомии. При раздувании легких активность мышц живота усиливается постепенно. Вероятно, имеет значение развитие и асфиксии. Но ответ косых мышц живота на раздувание легких устранялся ваготомией на шее и денервацией легких. Он сохранялся после ваготомии каудальнее корней легких (Бреслав, Глебовский, 1981). Увеличение конечно-экспираторного объема легких путем создания в легких постоянного положительного давления или включение «пороговой нагрузки выдоха» (при выдохах через трубку, опущенную в воду) также вызывало сокращения экспираторных мышц (Бреслав, Глебовский, 1981).

### **1.2.2. Инспираторное возбуждение при изменении объема легких.**

Помимо отрицательной, существует и положительная рефлекторная объемно-зависимая обратная связь между легкими и инспираторными структурами дыхательного центра. Во время сильного раздувания легких у животных возникает короткое (0.1—0.9 сек.) фазное возбуждение мышц вдоха с постепенно затухающим продолжением. Инспираторное возбуждение в ответ на раздувание легких соответствует вздохам, которые периодически возникают на

фоне спокойного дыхания у млекопитающих животных и человека. При быстром раздувании легких вспышка возбуждения возникает сразу; при постепенном увеличении объема легких развивается торможение, прерываемое вспышкой инспираторного возбуждения. При раздувании на фоне вдоха вспышка возбуждения накладывается на инспираторную активность, вдох оказывается удлинненным. Пороговое для возникновения вспышки инспираторного возбуждения увеличение объема легких у кошек (30—60 мл) лежит в пределах дыхательного объема (20—40 мл) или несколько превышает его. При усилении раздувания легких возбуждение усиливается, а при очень больших объемах — ослабевает. По другим данным, порог рефлекса вдвое превышает дыхательный объем. Вслед за рефлексом, вызванным раздуванием легких, следует период времени (97—130 сек.), в течение которого рефлекс не вызывается.

Вздохи, как правило, наблюдаются только при интактных блуждающих нервах. Инспираторное возбуждение в ответ на раздувание легких исчезает после ваготомии. Кратковременность возбуждения соответствует предположению, что его причиной является раздражение быстроадаптирующихся (ирритантных) рецепторов растяжения легких.

### *Эффект Хеда*

При постепенном охлаждении участка блуждающего нерва, когда избирательно нарушена проводимость более толстых афферентных волокон, раздувание легких вместо торможения инспираторной активности вызывает ее усиление, так называемый «парадоксальный эффект Хеда». Хотя оба явления — короткая вспышка и эффект Хеда — выражаются в инспираторном возбуждении в ответ на увеличение объема легких, вопрос об их идентичности неясен. Эффект Хеда рассматривается как результат блокады афферентов рецепторов растяжения легких и проявления действия импульсов от ирритантных рецепторов, проходящих по более тонким афферентным волокнам блуждающего нерва. Однако эффект Хеда имеет устойчивый, а не кратковременный характер и поэтому вряд ли может быть обусловлен импульсами быстроадаптирующихся рецепторов. В возникновении парадоксального эффекта может иметь значение уменьшение частоты афферентных импульсов в волокнах

медленноадаптирующихся рецепторов растяжения в месте холодого блока. Однако с другой стороны показано, что инспираторное возбуждение вызывается импульсами в афферентных волокнах меньшего калибра. Предполагается так же, что парадоксальный эффект Хеда является физиологическим артефактом, основанным на эффекте частоты: низкие частоты импульсов вызывают увеличение инспираторной активности.

***Усиление инспираторной активности при спадении легких.***

При отсасывании воздуха из легких или при пневмотораксе происходит усиление возбуждения мышц вдоха и укорочение или исчезновение экспираторных пауз. Дыхание становится частым и поверхностным. В других случаях возникает стойкое, продолжительное возбуждение инспираторных мышц. Рефлекторные реакции устойчивы во времени. Они исключаются или резко ослабевают после ваготомии. Аналогичные изменения дыхания наблюдаются при внешнем давлении на грудную клетку.

Естественно предположить, что инспираторная реакция на спадение легких наступает вследствие ослабления или прекращения разрядов медленноадаптирующихся рецепторов растяжения легких, многие из которых активны в конце выдоха. Однако интенсивность инспираторного возбуждения при спадении легких может быть больше, чем после ваготомии. Кроме того, охлаждение блуждающего нерва до 4—8°C выключает рефлекс на раздувание легких, но рефлекс на спадение легких сохраняется. Эти факты показывают, что рефлекс на спадение легких обуславливается не ослаблением импульсации рецепторов растяжения, а возбуждением других рецепторов, вероятно ирритантных, посылающих импульсы по более тонким волокнам. Данные о величине спадения легких, необходимой для вызова рефлекса, противоречивы. Некоторые исследователи наблюдали инспираторную реакцию только при полном коллапсе легких. На этом основании было сделано заключение о том, что рефлекс на спадение не активен при нормальном дыхании.

Афферентный механизм рефлекса на спадение легких, проявляющийся в частом и поверхностном дыхании при сильном спадении легких, многие авторы связывают с раздражением ирритантных рецепторов, которые называют рецепторами спадения легких. В таком случае рефлекс на спадение легких и

инспираторный рефлекс на увеличение объема легких имеют идентичный афферентный путь. Однако с этим представлением не согласуется устойчивость рефлекса на спадение легких: ирритантные рецепторы обладают относительно быстрой адаптацией. Рефлекторная реакция на спадение легких может быть обусловлена импульсами рецепторов спадения, активируемых при обычных выдохах и обладающих медленной адаптацией. Однако соответствующие афферентные волокна встречаются в блуждающих нервах очень редко.

Имеются данные о том, что инспираторные реакции на уменьшения объема легких при обычных выдохах и более сильных спадениях имеют разные механизмы. Сильные инспираторные реакции, сопровождающиеся увеличением частоты дыхания, наступающие при уменьшении резервного объема выдоха объясняются раздражением рецепторов спадения легких. Слабое инспираторное влияние при обычных выдохах признается следствием «частотного эффекта» импульсов от рецепторов растяжения легких. Как отмечено выше, раздражения блуждающего нерва, активирующие афферентные волокна группы А ( $\alpha$  и  $\beta$ ) с малой частотой (менее 30 в 1 сек.) вызывают усиление дыхания. На входе высокая частота разрядов рецепторов растяжения тормозит вдох. При выдохе частота афферентных импульсов уменьшается до величин, которые возбуждают инспираторные структуры. Однако это предположение нельзя считать доказанным. «Частотный эффект» постоянно наблюдается при электрическом раздражении ствола блуждающего нерва. При этом импульсы в афферентных волокнах возникают синхронно. В естественных условиях рецепторы разряжаются асинхронно, и импульсы поступают в мозг по разным волокнам со значительно большей частотой, чем от отдельных рецепторов. Кроме того, даже при слабом электрическом раздражении не исключено возбуждение волокон, связанных не с медленноадаптирующимися рецепторами растяжения легких.

J-рецепторы и другие рецепторы, посылающие импульсы по тонким C-волокам, в возникновении рефлекса на спадение легких, по-видимому, значения не имеют. Есть предположение о том, что рецепторы рефлекса на спадение легких находятся в легочных сосудах.

Таким образом, активность экспираторных мышц стимулируется в результате конвергенции (возможно, опосредованной) импульсов



хемотрецепторов и рецепторов растяжения легких на бульбоспинальных экспираторных нейронах вентрального дыхательного ядра. Возбуждающее действие этих импульсов проявляется лишь во время экспирации, когда экспираторные нейроны свободны от тормозящего влияния инспираторных нейронов.

### **1.2.3. Особенности рефлексов на изменения объема легких у животных и человека.**

Рефлексы Геринга и Брейера отчетливо выражены у млекопитающих — мышей, крыс, морских свинок, кроликов, овец, кошек, собак, обезьян. Имеются различия в интенсивности рефлекторных реакций. Сильнее всего «вагусное управление», выражено у морских свинок, у которых ваготомия необратимо прекращает периодическое дыхание, по другим данным — у кроликов. У собак и кошек торможение при раздувании легких менее продолжительно. Зато фазное возбуждение у кошек возникает при относительно меньших увеличениях объема легких, чем у кроликов. Явления, соответствующие рефлексам Геринга и Брейера, выражены у земноводных, пресмыкающихся и птиц.

У взрослого человека в отличие от животных значение рефлексов Геринга и Брейера в регуляции спокойного дыхания невелико. Временная блокада блуждающих нервов местными анестетиками не сопровождается существенным изменением частоты и глубины дыхания, также сохраняется прежнее напряжение углекислоты в крови. Тормозный рефлекс Геринга и Брейера не возникает при нормальном дыхательном объеме, для его возникновения требуется большее растяжение легких.

Выраженность торможения инспираторной активности при увеличении объема легких зависит от условий, в которых проводится наблюдение. У кроликов уретаново-барбитуратный наркоз усиливает этот рефлекс; без наркоза блокада блуждающих нервов может не вызвать урежения дыхания. У собак без наркоза раздувание легких не вызывало торможения дыхания. У кошек с интактной центральной нервной системой без наркоза торможение дыхания, вызываемое раздражением блуждающего нерва, постоянно наблюдается во сне, а у бодрствующих кошек выражено слабо или отсутствует. Эти данные

указывают на возможность подавления рефлексов Геринга и Брейера механизмами передних отделов мозга.

В отличие от наркотизированных животных у бодрствующего человека при создании избыточного внутрилегочного давления 30 мм.рт.ст. (Бреслав и др., 1985) не возникает первоначального апноэ в момент перехода на дыхание под избыточным давлением. Так же тормозный рефлекс на растяжение легких исчезает у новорожденных уже в первые дни жизни, хотя сначала увеличение объема легких вызывает апноэ (Франкштейн, 1974).

Следовательно, тормозный рефлекс Геринга и Брейера не принимает участие в саморегуляции дыхания в покое. Отсутствие тормозного дыхательного рефлекса у человека можно объяснить возросшей в процессе эволюции у него активностью головного мозга и развитием речи, которые приводят к подавлению поступающих в центральную нервную систему импульсов с рецепторов легких (Франкштейн, 1974).

Однако, в 1914 г. Христиансен и Холден получили очень четкое апноэ при раздувании легких и пришли к заключению о наличии тормозного рефлекса Геринга и Брейера у спящих или наркотизированных людей. При перекрытии дыхательных путей у спящих людей изменения дыхания соответствовали по направлению реакциям у животных, но были слабее. Другими исследователями были получены противоположные результаты: при перекрытии воздухоносных путей на вдохе наблюдалось учащение дыхания. У людей под тиопенталовым наркозом было обнаружено торможение дыхания при раздувании легких, однако оно имело гораздо меньшую продолжительность, чем у животных. При отсасывании части резервного объема выдоха наблюдалось небольшое увеличение частоты и силы вдохов.

Гуз и соавторы в 1966 году впервые изучали влияние блокады блуждающих нервов на дыхание человека. При сохраненных блуждающих нервах гиперпноэ, вызываемое гиперкапнией или гипоксией, проявляется увеличением как глубины, так и частоты дыхания. После выключения блуждающих нервов учащения дыхания не происходит, вентиляция лёгких постепенно растёт только вследствие увеличения глубины дыхания и поэтому максимальная величина лёгочной вентиляции снижается в 2 раза. В отличие от

животных у человека значение рефлексов Геринга и Брейера в регуляции спокойного дыхания невелико. Временная блокада блуждающих нервов местными анестетиками не сопровождалась изменениями частоты и глубины спокойного дыхания. Однако, и у человека и у животных, увеличение частоты дыхания при гиперпноэ обеспечивается рефлексами Геринга и Брейера: это увеличение выключается блокадой блуждающих нервов, что значительно ограничивает рост вентиляции легких (Косицкий, 1985)

При отведении потенциалов действия от изолированных волокон блуждающего нерва было установлено, что характер разрядов типичен для медленноадаптирующихся рецепторов растяжения. Этот результат свидетельствует об активности рецепторов растяжения легких человека при спокойном дыхании. Как и у человека, часть рецепторов растяжения легких у животных возбуждена на выдохе. Возбуждение рецепторов усиливается при увеличении объема легких в пределах дыхательного объема. Частота разрядов рецепторов растяжения увеличивается в линейной зависимости от объема легких. При увеличении объема легких на 800 мл частота разрядов рецепторов растяжения достигает 100—150 в 1 сек.

У людей под наркозом раздувание легких в пределах дыхательного объема имело слабое влияние на деятельность дыхательного центра. Дальнейшее увеличение объема легких тормозило дыхание. Введение в легкие 1 л воздуха приводило к апноэ, которое в 2—6 раз превышало длительность контрольного дыхательного периода.

У людей без наркоза отсасывание воздуха из легких не вызывает закономерного увеличения частоты дыхания. Но пневмоторакс сопровождается такой реакцией, а также снижением напряжения углекислого газа и кислорода в артериальной крови. Таким образом, по данным Гуза и соавторов, у человека имеются рефлексы как на увеличение, так и на уменьшение объема легких. Но оба рефлекса, по сравнению с таковыми у животных, имеют относительно более высокие пороги, чем обуславливается наличие «нейтральной зоны» порядка  $\pm 1000$  мл от уровня функциональной остаточной емкости.

Другие авторы представили данные, говорящие об участии рефлексов Геринга и Брейера в регуляции спокойного дыхания у человека. Короткие

толчки давления вызывают отчетливые рефлекторные реакции дыхания у бодрствующих и спящих людей. Предполагают, что рефлексы на растяжение легких у человека обладают более быстрой адаптацией, чем у животных, и проявляются преимущественно в динамических условиях.

Импульсы от рецепторов легких участвуют в формировании некоторых видов ощущений при нарушениях дыхания. Во время блокады блуждающих нервов резко ослабевают неприятные ощущения в конце произвольной задержки дыхания и при диспноэ, исчезают ощущения при механическом раздражении слизистой трахеи и бронхов, но не изменяется способность определять внешнее сопротивление дыханию.

### **1.3. Цитокины и регуляция физиологических функций.**

Одной из важных и самых многочисленных функциональных групп гуморальной системы иммунитета являются цитокины. Однако цитокины относятся не только к факторам иммунной системы, они также играют ключевые роли в тканевом гомеостазе, кроветворении, межсистемной передаче сигнала и даже поведении (Кетлинский, Симбирцев, 2008).

Цитокины являются полипептидными факторами (мол. масса от 8 до 80 кДа), лишенные специфичности в отношении антигенов, продуцируемые преимущественно активированными клетками кроветворной и иммунной систем и опосредующие межклеточные взаимодействия при кроветворении, воспалении, иммунных процессах и межсистемных коммуникациях (Ярилин, 2010).

#### ***1.3.1. Общая характеристика и классификация цитокинов.***

Первоначально считалось, что цитокины опосредуют развитию кахексии и один из первых цитокинов описанный в 40-е гг. XX века был назван “кахектином” - фактором, присутствовавшим в сыворотке крови и способного вызывать кахексию или снижение веса тела (Carswell, 1975, Rothwell, 1995). Впоследствии этот медиатор выделили и показали его идентичность фактору некроза опухолей (TNF).

Классификация цитокинов отражает историю их изучения. Вначале их разделяли на лимфокины и монокины, в зависимости от продуцирующих клеток-

T-лимфоцитов и моноцитов, но четко разграничить данные группы не удалось и введен единый термин "цитокины". В 1979 г. для обозначения и систематизации был предложен термин "интерлейкины" (Cohen et.al, 1974), то есть медиаторы, осуществляющие связь между лейкоцитами. Первые обозначения получили IL-1 и IL-2, новые цитокины (кроме хемокинов) также обозначались IL и нумеровались. 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).

В настоящее время выделяют следующие общие свойства цитокинов (Симбирцев, 2004):

1. Небольшие полипептиды (мол. масса от 8 до 80 кДа) не обладающие антигенной специфичностью.
2. Синтез цитокинов является индуцибельным процессом.
3. Цитокины синтезируются в ответ на стимуляцию через короткий промежуток времени.
4. Один и тот же цитокин может продуцироваться различными по гистогенетическому происхождению типами клеток организма в разных органах.
5. Цитокины обладают плеiotропностью биологического действия.
6. Для цитокинов характерна взаимозаменяемость биологического действия.
7. Биологические эффекты цитокинов опосредуются через специфические клеточные рецепторные комплексы, связывающие цитокины с очень высокой аффинностью, причем отдельные цитокины могут использовать общие субъединицы рецепторов.
8. Цитокины индуцируют либо подавляют синтез самих себя, других цитокинов и их рецепторов, участвуя в формировании цитокиновой сети.
9. Цитокины могут быть ассоциированными с мембранами синтезирующих их клеток, обладая в виде мембранной формы полным спектром биологической активности.
10. Цитокины могут влиять на пролиферацию, дифференцировку и функциональную активность клеток-мишеней.

11. Цитокины действуют на клетки различными путями: аутокринно; паракринно и эндокринно. В последнем случае действие цитокинов напоминает действие гормонов.

Цитокины подразделяются на следующие семейства: интерлейкины (факторы взаимодействия между лейкоцитами) (от IL-1 до IL-34), интерфероны (цитокины с противовирусной активностью) (IFN- $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  и др.), факторы некроза опухолей (цитокины с цитотоксической активностью) (TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$  и др.), колониестимулирующие факторы (гемопоэтические цитокины) (M-KCФ, G-KCФ, MГ-KCФ и др.); факторы роста (ФРН, ФРЭ); хемокины (хемотаксические цитокины). Данные границы между цитокинами являются условными.

По структуре выделяют несколько разновидностей молекул цитокинов.

Подавляющее большинство из них в качестве характерного структурного элемента содержит 4  $\alpha$ -спирали (2 пары  $\alpha$ -спиралей, расположенных под углом друг к другу). Выделяют короткий (гемопоэтинов — IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-7, IL-9, IL-13, IL-21, IL-27, IFN $\gamma$  и M-CSF) и длинный (по протяженности  $\alpha$ -спиралей) варианты (IL-6, IL-10, IL-11 и GM-CSF). ИЛ-1, ФНО $\beta$  и трансформирующего фактора роста характерно преобладание  $\beta$ -слоистой структуре. Короткая  $\alpha/\beta$ -цепь ( $\beta$ -пласт с прилежащими  $\alpha$ -спиралями) — хемокины. Смешанные мозаичные структуры, например, IL-12.

Кроме того, цитокины подразделяются 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- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  и др.) и противовоспалительные (IL-4, IL-5, IL-10, IL-13, IL-14, и др.) цитокины (Воробьев и др., 2006).

### ***1.3.2. Семейство интерлейкинов и их рецепторы.***

В 1979 г. был описан фактор, выполнявший, как тогда считалось, роль посредника между различными типами лейкоцитов — “интерлейкин” (ИЛ) (Aarden et al, 1979). В дальнейшем выяснилось, что существует по крайней мере два типа ИЛ-1, представляющие собой белки со сходной молекулярной массой, имеющие практически идентичный спектр биологической активности, но являющиеся продуктами 2-х разных генов. Данные вещества получили название ИЛ-1 $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$  (Интерлейкин –альфа и Интрелейкин-1бета).

Основными клетками продуцентами данного семейства являются макрофаги и эндотелиоциты, однако их продукцию также осуществляют Купферовские клетки печени, клетки Лангерганса эпидермиса, НК-клетки, кератиноциты, клетки эндотелия, нейтрофильные лейкоциты, фибробласты, Т и В - лимфоциты, клетки микроглии, нейроны, астроциты, олигодендроциты. Также культивируемые клеточными линиями макрофагальной природы U – 937, THP – 1, HL- 60 у человека и P388D1 у мышей.

Индукторами ИЛ-1 в организме являются две группы соединений, представляющие собой компоненты клеточных стенок бактерий и физиологически активные вещества, которые проявляются в очаге воспаления, часть данных веществ продуцируется клетками, активированными в ходе развития защитной реакции.

Среди бактериальных продуктов наиболее сильным индуктором является липополисахарид (ЛПС), он уже через 15 минут усиливает экспрессию ИЛ-1 $\beta$ , которая достигает своего максимума через 3-4 часа. ИЛ-1 $\alpha$  усиливает экспрессию под действием ЛПС только через 3-4 часа и пик наблюдается через 11-12 часов. При сравнении индукторов различной природы производные клеточных стенок оказались наиболее эффективными стимуляторами продукции ИЛ-1 (Кетлинский и др., 1992).

Пептидогликаны различных штаммов бактерий также служат эффективными индукторами. Их минимальной структурой, ответственной за индукцию продукции ИЛ-1, является мурамилдипептид (МДП), способный вызывать сравнимую с ЛПС индукцию продукции ИЛ-1. Среди аналогов МДП и пептидогликанов функция индукции ИЛ-1 коррелирует с их адьювантными свойствами. В частности были описаны исследования пептидогликана *Lactobacillus bulgaricus*, результаты которых показали дозозависимое индуцирование продукции ИЛ-1 перитонеальными макрофагами мышей в тех же концентрациях, что и ЛПС *E.coli*, однако пептидогликан оказался более эффективным стимулятором секреции ИЛ-1, чем МДП (Кетлинский и др, 1987). Иммуностимулирующая активность данных веществ находится в прямой зависимости от их способности стимулировать продукцию ИЛ-1. Данное

свойство является частью биологической активности пептидогликанов и МДП (Кетлинский С.А. и др. 1992).

Производство ИЛ-1 контролируется путем комплексного взаимодействия многих цитокинов, гормонов и других соединений. Сами активные макрофаги секретируют несколько биологически активных медиаторов, регулирующих продукцию ИЛ-1. Эндogenousными ингибиторами синтеза ИЛ-1 являются PgE<sub>2</sub>, глюкокортикоиды, липокортин и гистамин.

**Кинетика ИЛ-1.** Кинетика продукции ИЛ-1 характерна для типичного индуцибельного белка. Нестимулированные макрофаги не содержат мРНК ИЛ-1 и не продуцируют его, но после активации различными индукторами начинается экспрессия генов ИЛ-1 с образованием биологически активного белка. После стимуляции клеток ЛПС мРНК ИЛ-1 появляется уже через 1-2 часа. Взаимодействие клеток с ЛПС необходимо только первые 2 часа, после чего удаление индуктора не влияет на дальнейший ход процесс продукции ИЛ-1 (Covillon et al., 1985).

Кинетика накопления мРНК для ИЛ-1 $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$  несколько различны. При стимуляции макрофагов ЛПС уровень мРНК ИЛ-1 $\beta$  достигает максимума к 4-6 часам и сохраняется на этом уровне несколько часов, тогда как мРНК для ИЛ-1 $\alpha$  достигает максимума к 10-12 часам после стимуляции. Уровень обеих мРНК постепенно падает и возвращается к исходному через 48 часов (Matsushima et al., 1987).

Известно, что предшественники ИЛ-1 $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$  не имеют в своем составе сигнальных пептидов или крупных гидрофобных участков, нужных для ассоциации с клеточной мембраны и обычного пути секреции через эндоплазматический ретикулум. Трансляция ИЛ-1 и его внутриклеточное накопление, как правило, не коррелируют с уровнем секреции, т.е. оба процесса не проходят последовательно и по разному регулируются.

В стимулированных моноцитах крови ИЛ-1 выявляется в составе мембран, цитозоле и лизосомах, однако в эндоплазматическом ретикулуме его нет (Vakouche et al, 1987). По мнению Кетлинского и Симбирцева, синтезированный предшественник ИЛ-1 из цитозоля попадает в лизосомы, где под влиянием протеолитических ферментов происходит процессинг с



образованием зрелой формы ИЛ-1, которая выходит во внешнюю среду с помощью лизосомальных пузырьков. Другое объяснение заключается в способности предшественника ИЛ-1 связываться с цитозольными белками и достигать мембраны, проделывая путь, как в случае рециклирования рецепторов (Кетлинский. и др., 1992).

**Мембранный ИЛ-1.** Экспериментально было обнаружено наличие мембранной формы ИЛ-1. Данный интерлейкин ведет себя как интегральный мембранный белок. Он не вымывается из мембраны солевыми растворами или при изменениях рН, его удаление возможно только с применением детергентов (Kurt-Jones et.al., 1985). В составе мембран интактных макрофагов данного индуцибельного белка нет. Большая часть клеток, секретирующих ИЛ-1, имеют в своем составе мембранную форму данного белка.

В виде мембранной формы ИЛ-1 обладает широким спектром активности: индуцирует продукцию P<sub>g</sub>E<sub>2</sub>, стимулирует пролиферацию Т-лимфоцитов, изменяет синтез белков, культивируемых клетками печени, и проявляет противоопухолевое действие (Weuscer et.al., 1987; Kurt-Jones. et.al., 1985).

Значение мембранной формы ИЛ-1 скорее всего связано с созданием наиболее эффективной системы передачи активирующих сигналов от макрофагов к Т-лимфоцитам, а также к другим клеткам, способными взаимодействовать с макрофагами посредством межклеточных контактов. В ряде случаев макрофаги усиливают пролиферацию Т-лимфоцитов только за счет мембранной формы (Kurt-Jones. et.al., 1982).

**Рецепторы ИЛ-1.** Рецепторы цитокинов по характеру их трехмерной структуры (по конформации аминокислотной последовательности) разделяются на три группы (Ройт и др., 2000). Во-первых, это рецепторы, внеклеточная часть которых содержит около 200 аминокислотных остатков (это рецепторы к ИЛ-2, ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-7, ИЛ-9, ИЛ-12, гранулоцитарному колониестимулирующему фактору, гранулоцитарно-макрофагальному колониестимулирующему фактору); во-вторых, семейство иммуноглобулин-подобных молекул, объединяющая рецепторы к интерферонам, макрофагальному колониестимулирующему фактору, а также рецепторы к ИЛ-1

( $\alpha$  и  $\beta$ ); и, наконец, рецепторы к фактору некроза опухолей (ФНО- $\alpha$  и ФНО- $\beta$ ), лимфотоксину, фактору роста нервов (ФРН) и др.

Семейство ИЛ-1 включает два мембранно-связанных рецептора I и II типа: ИЛ-1R1 и ИЛ-1R2, и ИЛ-1-конвертирующий фермент (ICE). Оба рецептора являются гликопротеидами, принадлежат к семейству иммуноглобулинов и обладают единственным трансмембранным доменом. Каждый рецептор связывается с ИЛ-1 $\alpha$ , с ИЛ-1 $\beta$  и с ИЛ-1ra, но с различной аффинностью. Предполагается, что биологические действия ИЛ-1 производятся исключительно при его взаимодействии с рецептором первого типа ИЛ-1R1 (Greenfeder et al, 1995), тогда как рецептор второго типа ИЛ-1R2 функционирует исключительно как «ложная цель» или «ловушка», которая ограничивает биодоступность ИЛ-1 для взаимодействия с ИЛ-1R1 и ограничивает проявление его биологического действия. Однако известно, что ИЛ-1 может взаимодействовать в ЦНС с различными рецепторами, биологическая роль которых еще не выяснена (Rothwell et al, 1999). Набор различных типов клеток, несущих рецепторы к ИЛ-1, крайне велик и распространяется практически по всем системам организма, в том числе и нервную систему.

Впервые рецепторы ИЛ-1 были открыты на Т клетках мышинной лимфомы LBRM-33-1A5 (Dower et al., 1985). Также рецепторы ИЛ-1 были обнаружены на лимфоцитах периферической крови человека, тимоцитах, нормальных фибробластах, Т-клеточных мишенях, В – лимфоме, клетках меланомы и др., то есть их экспрессируют большинство типов клеток, на которые ИЛ-1 оказывает свое биологическое действие.

Исследования показали отсутствие видовой специфичности биологического действия ИЛ-1, так как различные клетки человека и мыши экспрессируют одинаковые рецепторы, связывающие ИЛ-1 мыши и ИЛ-1 $\alpha$  / ИЛ-1 $\beta$  с равной аффинностью. Среди Т-лимфоцитов мышей рецепторы ИЛ-1 экспрессируют клетки с фенотипом L3T4<sup>+</sup> (Т-хелперы), причем активированные и покоящиеся лимфоциты экспрессируют одинаковое количество рецепторов (Lowenthal et al., 1987). У человека покоящиеся Т-лимфоциты периферической крови экспрессируют около 40 рецепторов на клетку, но их число возрастает до 350 после стимуляции Кон А (конканавалин А). При активации Кон А

рецепторы ИЛ-1 экспрессируют 30% Т-лимфоцитов, максимум экспрессии наблюдается через 48 часов после стимуляции (Sharma et.al., 1987). Также усилению экспрессии рецепторов ИЛ-1 способствуют стероидные гормоны. Преднизолон в дозах  $10^{-5}$ - $10^{-7}$  М дозозависимо усиливал экспрессию гена ИЛ-1 в В-лимфоцитах периферической крови человека, фибробластах и НК клеточной линии УТ, увеличивая число рецепторов на клетку со 100 до 2000 в случае В лимфоцитов. Для проявления действия требуется инкубация с клетками в течение 6 часов (Matsushima et.al., 1987).

Важную роль в связывании рецептора с ИЛ-1 играет температура, ее оптимальное значение 37°C. В этих условиях происходит быстрая интернализация комплекса ИЛ-1 с рецепторами и связанная с этим утрата поверхностных клеточных рецепторов к ИЛ-1, которые восстанавливаются в течение 16 часов. Следовательно, ИЛ-1 снижает экспрессию своих собственных рецепторов посредством механизма интернализации (Matsushima et.al., 1987). Уже через 30 мин. 50%связавшегося с рецепторами ИЛ-1 попадает в лизосомы, но через 6 часов 30-35% интернализованного ИЛ-1 обнаруживается в недеградированном состоянии в ядрах клеток. Такая реакция наблюдается для Т-лимфоцитов, фибробластов и нейтрофильных лейкоцитов. Возможно, ИЛ-1 взаимодействует помимо поверхностных рецепторов клеток, так же и со специфическими ядерными рецепторами (Mizel et.al., 1987) хотя для стимуляции пролиферации Т-лимфоцитов это не имеет значение, поскольку микроинъекции ИЛ-1 в клетки не вызывают изменений пролиферации (Durum et.al., 1988). Тем не менее в других клетках это может служить механизмом прямого воздействия ИЛ-1 на экспрессию некоторых белков (Кетлинский и др. 1992).

Также в организме имеется рецепторный антагонист ИЛ-1, относящийся к тому же семейству, что и Интрелейкин -1альфа и Интрелейкин -1бета Его молекулярная масса составляет 17000 и обладает родством к рецепторам для ИЛ-1. Основная функция раИЛ-1 – отменять большинство эффектов ИЛ-1. В настоящее время он рассматривается как перспективный противовоспалительный фактор локального действия (Ярилин, 1999).

### *1.3.3. Действие цитокинов на физиологические функции организма.*

Современные литературные данные указывают на то, что цитокины способны оказывать влияние на широкий спектр функций организма. Это реализуется в обеспечении как клеточного, так и гуморального иммунного ответа, правильного созревания иммунной ткани, индукции процессов воспаления, регуляции гематопоеза, а также защите гемопоэтических клеток от неблагоприятного влияния окружающей среды (например, ионизирующего излучения и цитотоксических агентов), контроле клеточной пролиферации и дифференцировки, запуске и поддержании процессов репарации тканей. Влияние цитокинов распространяется на сердечно-сосудистую систему за счёт участия некоторых из них (например, ФНО) в процессах ангиогенеза, регуляции состояния эндотелия и влияния на кардиомиоциты (Sivangala, Sumanlatha, 2015). Патологические исследования этого вопроса в современности, в том числе и в нашей стране, сконцентрированы вокруг темы участия цитокинов в процессах атерогенеза. Показано, что различные их виды могут обладать как про-, так и противовоспалительным действием, и для прогноза неблагоприятных сердечно-сосудистых событий целесообразно рассматривать соотношение про- и противовоспалительных цитокинов в тканях пациента при различных его состояниях (Fatkhullina et.al., 2016, Прудников, Щупакова, 2018). Как упоминалось, цитокины способны оказывать как прямое, так и опосредованное влияние на эндотелий. При этом противовоспалительный цитокины обладают защитным действием в отношении клеток эндотелия за счёт антагонистического влияния на действие провоспалительных, а также за счёт редукции оксидативного стресса (Shao et.al., 2014). Влияние цитокинов на сердечно-сосудистую деятельность может также выражаться в их участии в патогенезе сердечной недостаточности. Существуют исследования, в которых показано, что длительное повышение уровня цитокинов в миокарде способно вызвать его повреждение.

Различные эффекты цитокинов реализуются на уровне ЦНС, и не только, как считалось ранее, при патологических (воспалительных) состояниях, но и в процессе её формирования и поддержания нормального функционирования взрослого организма, что проявляется в обеспечении синаптической

пластичности, нейро-глиальных взаимодействий и даже влиянии на нейрогенез. Эти процессы вносят вклад в развитие и поддержание когнитивных, аффективных и поведенческих функций. В частности, крупный обзор российских авторов указывает на установленное участие ФНО и ИЛ-1 и ИЛ-6 в обеспечении процессов памяти и обучения. ИЛ-1β и ФНО могут напрямую влиять на возбудимость нейронов мозга, а также осуществляют регуляцию потенциалзависимых каналов, рецепторов глутамата, ГАМК-эргических рецепторов и т.д. (Левин, Годухин, 2017). Исследования на мозге крыс указывают на то, что некоторые цитокины способны влиять на определённые поведенческие паттерны животного. Так, недостаток ИФγ приводил к снижению социальной активности крыс, в то время как недостаток ИЛ-4 приводил к тому, что эти крысы были более «социальны», чем большинство других. Ещё одним важным поведенческим паттерном, проявляющимся у крыс, в ответ на протекающую в организме инфекцию являлось болезненное поведение, включавшее в себя заторможенность, выпадение из социальной жизни, сонливость и снижение аппетита. Было показано, что эти необходимые для выживания особенности поведения индуцируются ИЛ-6, ФНО и, в особенности, ИЛ-1β (Filiano et.al., 2017). Одним из механизмов влияния цитокинов на функциональное состояние мозга может быть их воздействие на глиальную ткань. Некоторые современные исследования установили, что эффекторные молекулы, ассоциированные с ИФγ-продуцирующими Т-хэлперами 1 типа, индуцируют устойчивые и отчетливые транскрипционные изменения в микроглии и астроцитах, что в дальнейшем может за счёт сложных патогенетических путей приводить к развитию ряда заболеваний, например, рассеянного склероза (Prajeeth et.al., 2018). Влияние цитокинов на функции мозга находит своё отражение в исследованиях об их роли в развитии различной психической патологии. Данные современных обзоров показывают значительную роль различных хемокинов в патогенезе большого депрессивного расстройства (Milenkovic et.al., 2019). Существуют также указания на то, что хемокин CCL11 может оказывать повреждающее действие на функцию гиппокампа в позднем возрасте, что, возможно, имеет отношение к болезни Альцгеймера и депрессии у пожилых. А также имеются данные о повышенной

пренатальной экспозиции хемокина CXCL8, которая нарушает процессы раннего формирования нервной системы, предрасполагая к развитию шизофрении (Stuart et.al., 2015). В исследовании детей с расстройствами аутистического спектра было обнаружено, что участники, мононуклеарные клетки периферической крови, которых в ответ на стимуляцию продуцировали большее количество провоспалительных цитокинов, имели большую выраженность ретардации в развитии, нарушения социального аффекта, более частые расстройства сна и эпизоды агрессии (Careaga et.al., 2017). Это может говорить о важной роли цитокинов в формировании и созревании нервной системы в раннем возрасте. Одним из важных механизмов обеспечения связи нервной, эндокринной и иммунной систем в организме человека является способность цитокинов (в частности ФНО, ИЛ-1, ИЛ-6) оказывать влияние на гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальную ось, что приводит к увеличению продукции глюкокортикоидов.

Кроме того, важнейшее влияние цитокины оказывают на многие другие функции организма, такие как эмбриогенез (Симбирцев А.С., Тотолян А.А., 2015), гестационный процесс и родовая деятельность (Yang et.al., 2017). Существуют различные данные о влиянии цитокинов на дыхательную функцию. Указывают на дифференцированное воздействие цитокинов на параметры внешнего дыхания в норме или при наличии воспалительного процесса в бронхах в связи с вирусной инфекцией. В частности, при исследовании детей с бронхиальной астмой было установлено, что высокие уровни провоспалительных цитокинов при отсутствии вирусной инфекции ассоциированы со снижением дыхательной функции, в то время как при наличии таковой избыточный синтез этих цитокинов способствовал меньшему нарушению параметров внешнего дыхания (Lewis et.al., 2018).

Таким образом, исходя из представленных сведений, в настоящее время нет экспериментальных данных об участии цитокинов, и в частности ИЛ-1 $\beta$  в механорефлекторных механизмах регуляции дыхания.

## ГЛАВА 2 ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.

### 2.1. Объект исследования.

Объектом исследования являлись лабораторные крысы Wistar (самцы, весом 250-350 грамм, возраст 2-3 месяца, n=100) из ЦКП Биокolleкция ИФ РАН. Экспериментальные животные содержались в стандартных клетках размером 40x100 см по 3-5 особей в соответствии с требованиями, предъявляемыми к разведению и выращиванию, а также содержанию лабораторных животных. В основе рациона животных были сухие гранулированные корма. Эксперименту предшествовала пищевая депривация в течение 12-15 часов при обеспечении свободного доступа к воде.

### 2.2 Хирургическая подготовка животного к эксперименту.

Все экспериментальные данные были получены в острых опытах на анестезированных животных (уретан, 1400 мг/кг, внутривенно). Контроль над глубиной наркоза осуществлялся по проявлению болевых рефлексов. Нормальная температура тела поддерживалась при помощи термоконтроллера ML295/R (производство ADInstruments, Австралия) на уровне 35,6-36,8 °C.

В ходе хирургической подготовки животного к эксперименту было необходимо обеспечить регистрацию параметров внешнего дыхания, внутригрудного давления, электромиограммы диафрагмы, контроль температуры тела, а также условия для системного и центрального введения веществ.

После достижения необходимой глубины наркоза животное фиксировалось на препаровальном столе животом вверх, после чего в первую очередь осуществлялась трахеостомия. Для этого производилось рассечение кожи по средней линии шеи от подбородочной области до грудины, затем тупым способом расслаивали мышцы до трахеи, трахею брали на лигатуры. Ниже хряща гортани (на 2 хрящевых кольца) осуществлялся T-образный разрез, в который вставлялась трахеостомическая трубка. Трубка фиксировали лигатурами к трахее. Для регистрации инспираторных колебаний

внутригрудного давления в нижнюю треть пищевода через рот вводился катетер, конец которого заканчивался резиновым баллоном, объемом около 1 см<sup>3</sup>.

Затем устанавливались катетеры в бедренную вену. Для этого производился разрез кожи по средней линии внутренней поверхности бедра через паховую складку до средней линии живота. Тупым способом мышцы расслаивались, бедренная вена отпрепаровывалась и фиксировалась на лигатурах. В вену устанавливались полиэтиленовые катетеры, заполненные физиологическим раствором, содержащим гепарин в концентрации 2500 ЕД/мл. Венозный катетер соединялся с инъекционным шприцом, заполненным гепаринизированным раствором. Края раны стягивались кожными швами.

В экспериментах с регистрацией электрической активности диафрагмы производилась лапаротомия по средней линии живота и крючкообразные стальные электроды устанавливались на реберную часть диафрагмы справа. Соединительные провода с разъемами выводились в разрез, разрез зашивался послойно.

Голова животного фиксировалась в стереотаксическом аппарате, в прямую кишку устанавливался термодатчик, и включался термоконтроллер. К трахеостомической трубке присоединялась пневмометрическая трубка, подключенная к дифференциальному датчику давления. Пищеводный баллон присоединялся к датчику давления. Все датчики подключались к системе сбора данных. При помощи микроманипулятора на черепе размечалось, а затем рассверливалось отверстие для введения микроинъектора в правый боковой желудочек. Для определения координат желудочка использовался стереотаксический атлас мозга крысы (Paxinos, Watson, 1982). После стабилизации температуры тела животного на уровне 36,8-37,0°C приступали к эксперименту. По окончании эксперимента животное усыплялось введением высокой дозы анестетика.

### **2.3. Метод регистрации объемно-временных параметров дыхания.**

Для регистрации объемно-временных параметров дыхания и оценки их изменений в результате экспериментальных воздействий нами была использована методика пневмотахографии. Методика пневмотахографии, то есть регистрации объемной скорости воздушного потока, основана на регистрации



разности давлений, возникающих в пневмометрической трубке при прохождении сквозь неё потока газа (рис. 2.1.).

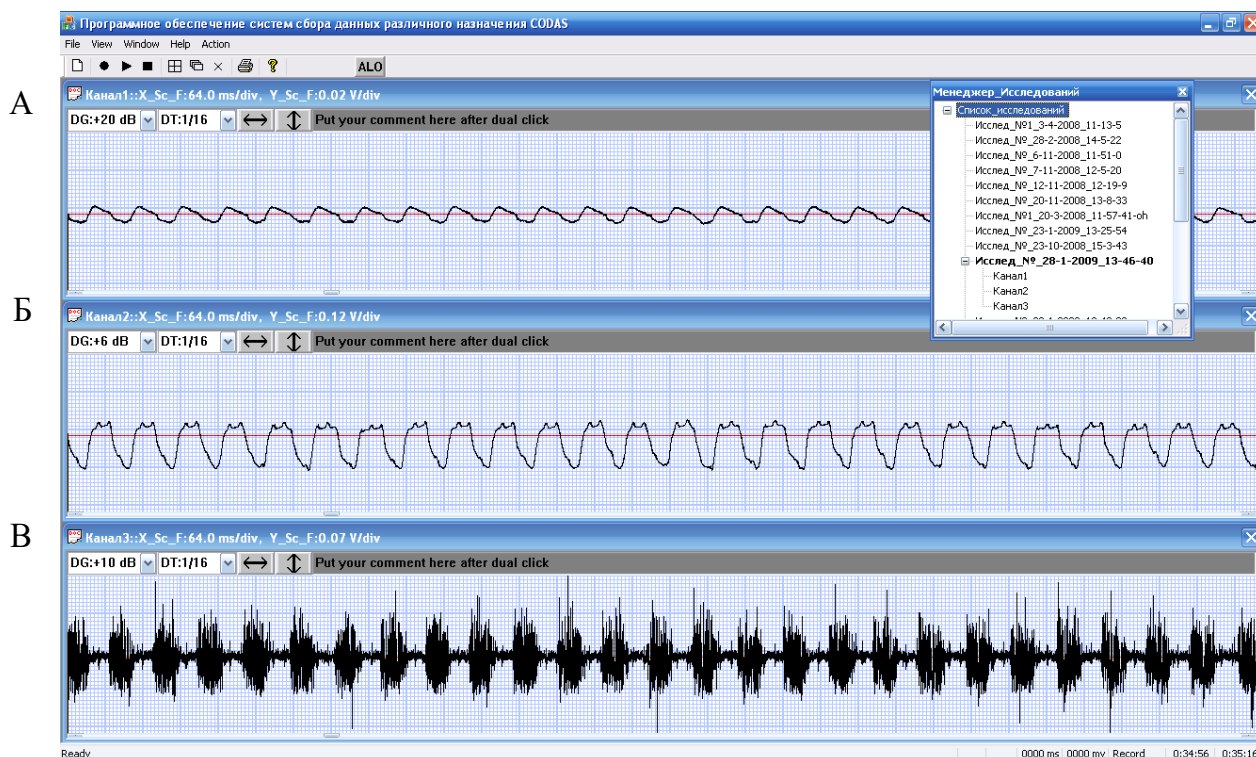


Рисунок 2.1. Регистрация пневмотахограммы (А), инспираторных колебаний внутригрудного давления (Б), электромиограммы диафрагмы (В).

Интерфейс программного обеспечения Codas.

В наших экспериментах объёмная скорость инспираторного потока фиксировалась при помощи пневмометрической трубки, предназначенной для проведения измерений на мелких лабораторных животных (MLT1L, AD Instruments, Австралия). Пневмометрическая трубка подсоединялась к трахеостомической канюле, пневмотахографу и миниатюрной клапанной коробке. По пневмотахограмме (ПТГ) производилось измерение максимальной скорости воздушного инспираторного ( $V_{I\max}$ ) и экспираторного потоков ( $V_{E\max}$ ), длительность вдоха ( $T_I$ ) и выдоха ( $T_E$ ), общая длительность. Дыхательный объём ( $V_T$ ) определялся путем интегрирования пневмотахографической кривой (рис. 2.2.A). Произведение величины дыхательного объёма и количества дыхательных движений за одну минуту позволяло рассчитать минутный объём дыхания ( $V_E$ ).

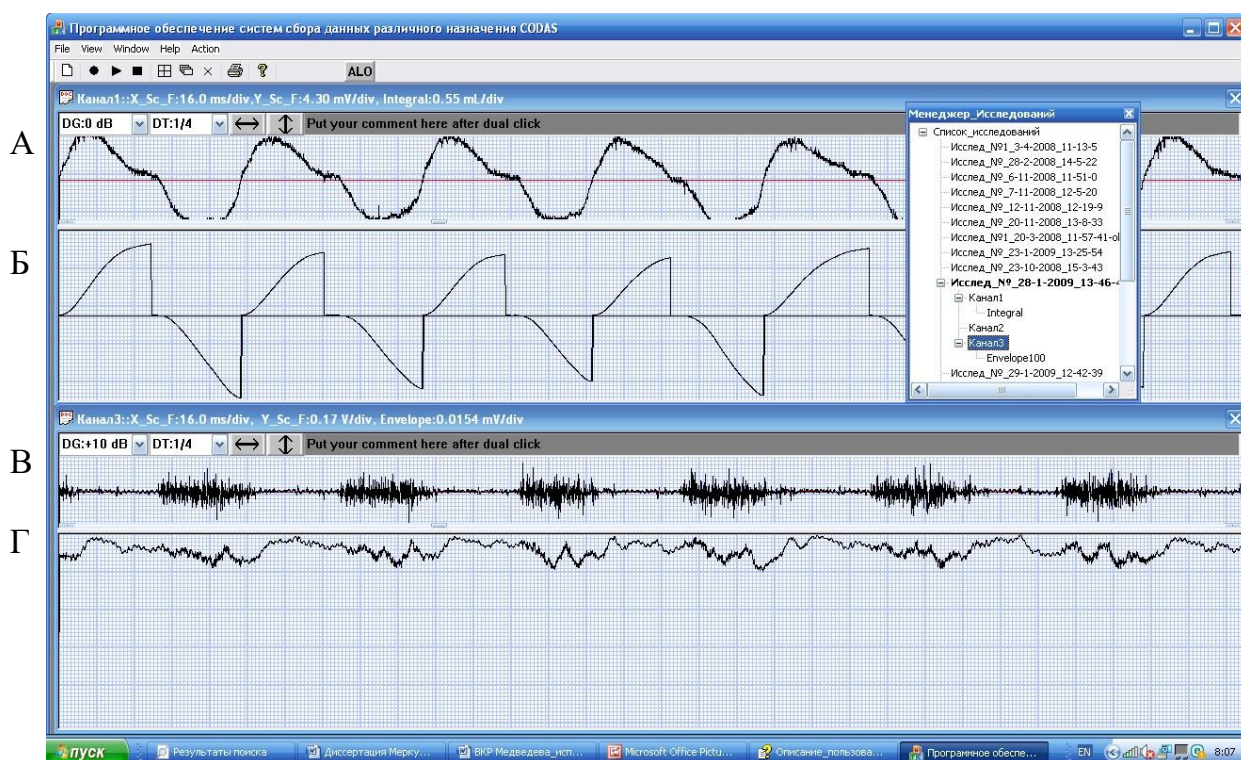


Рисунок 2.2. Обработка сигналов пневмотахограммы и электромиограммы при помощи пакета программ Codas.

А –пневмотахограмма, Б – спирограмма (интегрированная пневмотахограмма), В – электромиограмма диафрагмы, Г - огибающая сигнала электромиограммы диафрагмы с постоянной времени 100мс.

#### 2.4. Оценка общего инспираторного усилия.

Известно, что во время вдоха происходит снижение внутригрудного давления, а во время выдоха его возвращение к исходному значению. Амплитуда инспираторных колебаний внутригрудного давления (ВГД) напрямую зависит от силы сокращения дыхательных мышц, поэтому указанная величина используется в качестве показателя, характеризующего суммарную силу сокращений всех инспираторных мышц - общее инспираторное усилие. Высокая податливость стенок пищевода позволяет приравнять давление внутри пищевода к внутригрудному, и по изменениям внутригрудного давления можно судить об общем инспираторном усилии (рис. 2.1,Б). Регистрация инспираторных колебаний внутригрудного давления (Pes) осуществлялась с помощью катетера с латексным баллоном объёмом около 1 см<sup>3</sup>, заполненным воздухом. Баллон вводился через рот в пищевод и фиксировался в его нижней трети, так как

давление в нижней трети пищевода в максимальной степени соответствует внутригрудному давлению. Катетер соединялся с датчиком, подключенным к устройству сбора данных.

### 2.5. Способ оценки силы рефлексов Геринга-Брейера.

Инспираторно-тормозящий (ИТР) и экспираторно-облегчающий (ЭОР) рефлексы Геринга-Брейера запускаются импульсацией от медленно адаптирующихся рецепторов воздухоносных путей и осуществляют объёмно-зависимую обратную связь в системе дыхания. Однако каждый из них реализуется в разные фазы дыхательного цикла. ИТР реализуется при высоком уровне импульсации и участвует в регуляции длительности вдоха, прерывая его. ЭОР реализуется при низком уровне импульсации и проявляется в удлинении выдоха. Для тестирования силы этих рефлексов нами были использованы окклюзии верхних дыхательных путей в разные моменты дыхательного цикла.

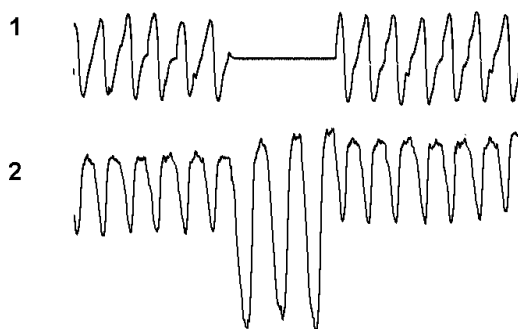


Рисунок 2.3. Тестирование инспираторно-тормозящего рефлекса Геринга-Брейера.

Эффект конечно-экспираторной окклюзии: увеличение продолжительности и амплитуды инспираторных колебаний ВГД.

1- пневмотахограмма, вдох - вверх; 2 – запись колебаний внутригрудного давления

Чтобы оценить состояние ИТР, использовали приём т.н. «функциональной ваготомии», то есть конечно-экспираторную окклюзию. Перекрытие дыхательных путей в конце выдоха на уровне функциональной остаточной емкости легких, фиксировало активность рецепторов на минимальном уровне. В этих условиях дыхательные движения не приводили к изменениям легочного объема. Этот методический прием позволял свести к минимуму влияние ИТР на

регуляцию дыхания, что приводило к увеличению длительности и амплитуды инспираторных колебаний ВГД (рис. 2.3). Эти изменения были тем больше, чем сильнее проявлял себя ИТР при свободном дыхании. Для оценки силы ИТР производилось нормирование длительности и амплитуды колебаний ВГД во время первого окклюзионного вдоха по отношению к аналогичным показателям последнего вдоха перед окклюзией, полученная величина выражалась в процентах. Следует иметь в виду, что прямым следствием выключения инспираторно-тормозящего рефлекса является увеличение силы и длительности инспираторных попыток только в первом и отчасти втором окклюзионных вдохах. Более длительные окклюзии вызывают изменение газового состава крови и усиление активности хеморецепторов. Поэтому для оценки инспираторно-тормозящего рефлекса используются параметры только первого и, в некоторых случаях, второго окклюзионных вдоха.

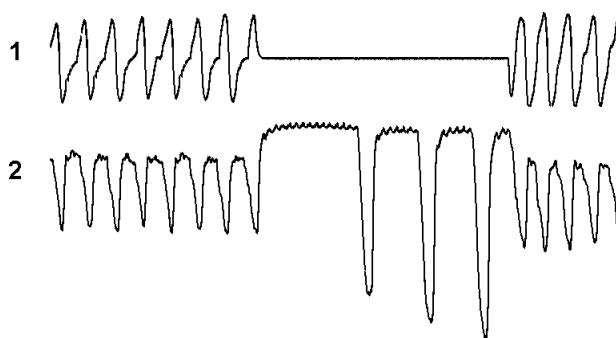


Рисунок 2.4. Тестирование экспираторно-облегчающего рефлекса Геринга-Брейера.

Эффект конечно-инспираторной окклюзии: резкое увеличение продолжительности первого окклюзионного «выдоха»

1- пневмотахограмма; 2 – запись колебаний внутригрудного давления

Для оценки ЭОР была использована конечно-инспираторная окклюзия, т.е. производилось перекрытие дыхательных путей в конце вдоха и, таким образом, объёма лёгких фиксировался на уровне дыхательного объёма. Активность рецепторов при этом оставалась на высоком уровне, что приводило к удлинению экспираторной паузы (рис. 2.4). Её величина нормировалась по



## 2.7. Экспериментальная установка

Экспериментальная установка состояла из стереотаксического аппарата для мелких лабораторных животных оснащённый двумя микроманипуляторами; устройство сбора физиологических данных (BIOGRAF-8, разработка СПбГУАП, Россия), персонального компьютера с установленным специализированным программным обеспечением (пакет CODAS, разработка СПбГУАП, Россия) (рис. 2.6.).

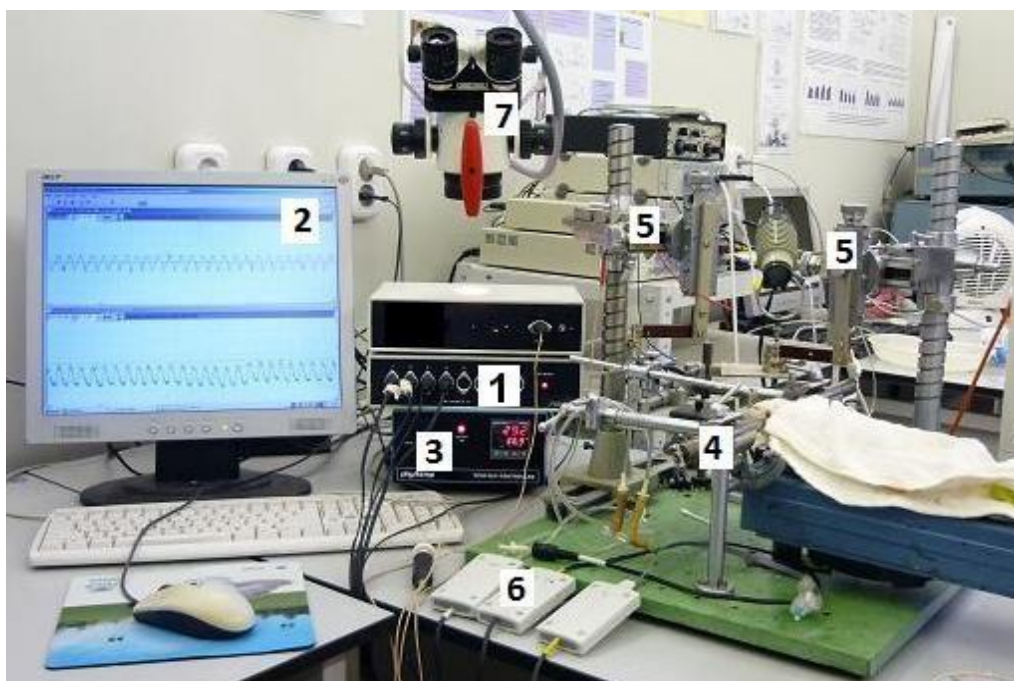


Рисунок 2.6. Общий вид экспериментальной установки.

1 – устройство сбора данных BIOGRAF-8, 2 – монитор компьютера, 3 – термоконтроллер, 4 – стереотаксический аппарат, 5 – манипулятор, 6 – предусилители с датчиками, 7 - операционный микроскоп.

Программный пакет Codas написанный в среде операционной системы WindowsXP позволял:

- устанавливать необходимое количество каналов регистрации (1 - 8);
- устанавливать частоту дискретизации сигнала;
- устанавливать скорость развертки сигнала.
- просматривать в ходе эксперимента поступающие сигналы;
- производить запись в базу сигналов поступающих с выбранных каналов;
- устанавливать метки в режиме записи;
- просматривать записанный файл;

- осуществлять экспорт участков записанного файла в текстовый файл с разделителем для дальнейшего анализа.

Таким образом, аппаратно-программный комплекс в составе устройства сбора данных и специализированного пакета программ давал возможность в ходе эксперимента наблюдать и регистрировать ПТГ, инспираторные колебания ВГД, электромиограмму диафрагмы и артериальное давление. Кроме того, программное обеспечение позволяло в режиме off-line интегрировать ПТГ, вычисляя величину ДО.

## **2.8. Экспериментальные протоколы и статистическая обработка данных.**

При проведении исследования было поставлено 7 серий экспериментов, в которых были зарегистрированы фоновые параметры паттерна дыхания анестезированной крысы и определены показатели силы рефлексов Геринга-Брейера; изучены эффекты ИЛ-1 $\beta$  на параметры дыхания и рефлекс, а также влияние диклофенака и L-NAME на эти эффекты. Длительность всех экспериментов составляла 120 минут, в течение которых производилась непрерывная регистрация пневмотахограммы, ВГД или ЭМГ диафрагмы.

В течение первых 10 минут производилась регистрация фоновых параметров дыхательной системы и тестирующие окклюзионные пробы с оценкой выраженности рефлексов Геринга-Брейера. Затем производилось экзогенное повышение уровня ИЛ-1 $\beta$  либо в крови, либо в цереброспинальной жидкости в зависимости от задачи исследования. Тестирующие кратковременные пробы проводились через каждые 20 минут до окончания эксперимента.

В экспериментальных сериях с исследованием роли простагландинов в реализации респираторных эффектов ИЛ-1 $\beta$  ингибитор циклооксигеназы диклофенак вводился внутривенно в количестве 0,5 мкг на крысу. При исследовании роли NO-ергических механизмов в бедренную вену вводилось 2 мл раствора L-NAME, неспецифического блокатора NO-синтазы в дозировке 10 мг/кг. Введение ингибиторов производилось за 10 мин до введения ИЛ-1 $\beta$ , далее эксперимент проходил по вышеописанному протоколу.

Для проверки предположения о возможной реализации респираторных эффектов ИЛ-1 $\beta$  посредством его взаимодействия с глутаматергической нейромедиаторной системой использовался дизоцилпин, известный также как препарат МК-801, который является неконкурентным антагонистом N-метил-D-аспаратных глутаматных рецепторов. Внутривенное введение 0,1 мл МК-801 производилось до и через каждые 30 минут после введения ИЛ-1 $\beta$ . Такая схема эксперимента была обусловлена тем, что введение МК-801 оказывает быстрое кратковременное действие на параметры внешнего дыхания, тогда как эффект ИЛ-1 $\beta$  развивается более медленно. В процессе обработки полученных результатов определялась величина регистрируемого параметра непосредственно перед введением МК-801 и через 1 минуту после его введения.

Для статистической обработки данных использовались пакеты программ MS Excel. Рассчитывались относительные процентные величины, средние значения величин и ошибки среднего. Для оценки достоверности различий использовались непараметрические критерии, а именно U-критерий Манна-Уитни и T-критерий Уилкоксона, а так же однофакторный дисперсионный анализ. Различия считались статистически достоверными при  $p < 0,01$  и  $p < 0,05$ .



### **ГЛАВА 3 ВЛИЯНИЕ ИЛ-1 $\beta$ НА ПАТТЕРН ДЫХАНИЯ.**

Прежде чем приступить к исследованию влияния повышенного уровня ИЛ-1 $\beta$  на рефлекторные механизмы регуляции дыхания необходимо было выяснить оказывает ли ИЛ-1 $\beta$  какое-либо влияние на основные функциональные параметры системы внешнего дыхания: частоту дыхания, дыхательный объем (ДО), минутный объем дыхания (МОД), скорость инспираторного потока, величину внутригрудного давления. Кроме того, учитывая то, что цитокины являются достаточно крупными молекулами, следовало установить, является ли гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) препятствием для модуляции интерлейкином паттерна дыхания. С этой целью было проведено 2 серии экспериментов, в которой было задействовано 16 животных. В первой серии вещество вводилось непосредственно в ликвор через боковые желудочки головного мозга в обход ГЭБ. Во второй серии экспериментов вещество вводилось внутривенно в систему кровообращения. Каждая серия сопровождалась контрольным введением физиологического раствора.

#### **3.1. Влияние повышения церебрального уровня ИЛ-1 $\beta$ на объемно-временные параметры дыхания.**

Через 40 минут после интравентрикулярного введения ИЛ-1 $\beta$  в цереброспинальную жидкость наблюдалось достоверное увеличение минутного объема дыхания, дыхательного объема, частоты дыхания, средней скорости инспираторного потока. Интравентрикулярное введение физиологического раствора не оказывало влияния на параметры внешнего дыхания (табл. 3.1). Анализ динамики частоты и глубины дыхания, позволил выделить две фазы ответа дыхательной системы на повышение церебрального уровня ИЛ-1 $\beta$ . В течение первых 40 минут после введения (первая фаза) наблюдалось увеличение частоты дыхания и рост дыхательного объёма (рис. 3.1). В конце первой фазы ответа частота дыхания превышала фоновые значения в среднем на 10%, а величина дыхательного объема – на 13%. Вследствие роста частоты и глубины дыхания происходило увеличение минутной вентиляции легких в среднем на 40% (рис. 3.1, В).

Таблица 3.1.

Объемно-временные параметры дыхания до и после интравентрикулярного введения ИЛ-1 $\beta$  и физиологического раствора

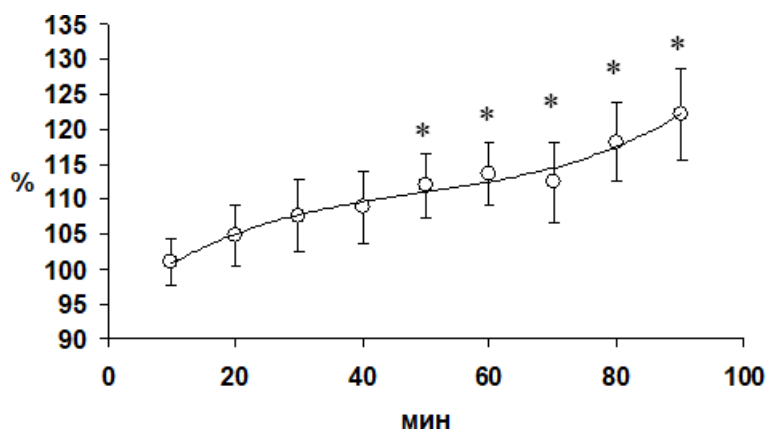
Параметр	ИЛ-1 $\beta$ , n=8			Плацебо (физ. р-р), n=8		
	фон	40 мин	60 мин	фон	40 мин	60 мин
ЧД, цикл/мин	109 $\pm$ 6	117 $\pm$ 6,8	118 $\pm$ 6,4*	104 $\pm$ 8,0	101 $\pm$ 10,4	94 $\pm$ 2,6
ДО, мл	1 $\pm$ 0,05	1,13 $\pm$ 0,06*	1,17 $\pm$ 0,04*	0,9 $\pm$ 0,14	1 $\pm$ 0,08	1 $\pm$ 0,12
МОД, мл/мин	104 $\pm$ 9	136 $\pm$ 3,7**	141 $\pm$ 5,4**	95 $\pm$ 8,2	104 $\pm$ 10,5	94 $\pm$ 10,5
Vинс, мл/с	3,7 $\pm$ 0,27	4,4 $\pm$ 0,12*	4,5 $\pm$ 0,19*	3,7 $\pm$ 0,31	3,8 $\pm$ 0,10	3,9 $\pm$ 0,11

**Примечание.** Достоверные изменения по сравнению с фоном: \*— $p < 0,05$ ;  
\*\*— $p < 0,01$ .

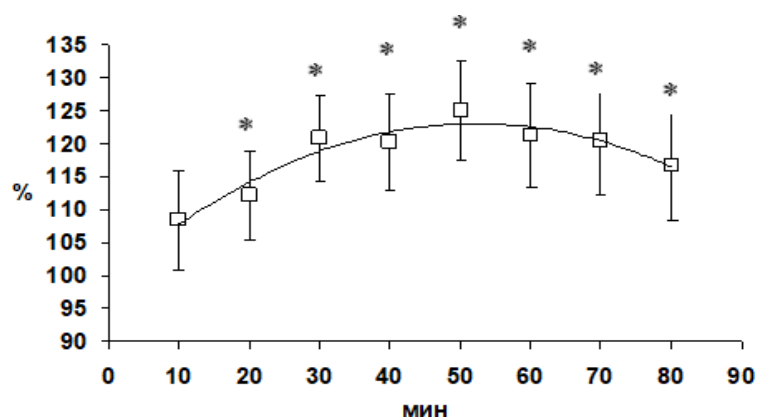
Затем в течение последующих 40 минут (вторая фаза ответа) наблюдалось стабилизация дыхательного объема с последующим постепенным снижением. При этом частота дыхания продолжала возрастать, достигая в конце второй фазы ответа 120 $\pm$ 7,5 % относительно фоновых значений. Вследствие роста частоты дыхания, вентиляция легких во второй фазе ответа продолжала значительно превышать свой фоновый уровень, несмотря на снижение дыхательного объема. Кроме изменения объемно-временных параметров дыхания после введения ИЛ-1 $\beta$  наблюдался рост инспираторных колебаний внутригрудного давления (ВГД), величина которых отражает силу сокращений дыхательных мышц и электрической активности диафрагмы (рис. 3.2).

Расчеты показали соответствие динамики изменений амплитуды интегрированной ЭМГ диафрагмы, амплитуды инспираторных колебаний ВГД и величины ДО. Максимальное увеличение электрической активности диафрагмы также, как и других параметров наблюдалось через 40-45 минут после введения ИЛ-1 $\beta$ . Затем происходило постепенное возвращение данных параметров к фоновым значениям (рис. 3.3)

А



Б



В

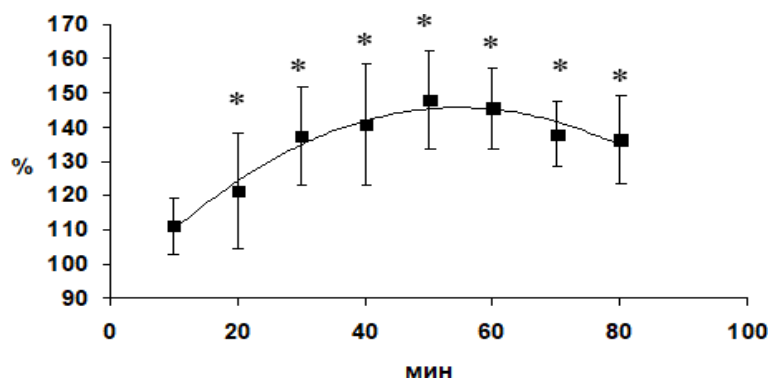


Рисунок 3.1. Динамика изменения частоты дыхания (А), дыхательного объёма (Б) и минутного объёма дыхания (В) после интравентрикулярного введения ИЛ-1 $\beta$ .

По осям ординат – величина учитываемого показателя, нормированная по отношению к его величине перед введением вещества, по осям абсцисс – время прошедшее после введения вещества.

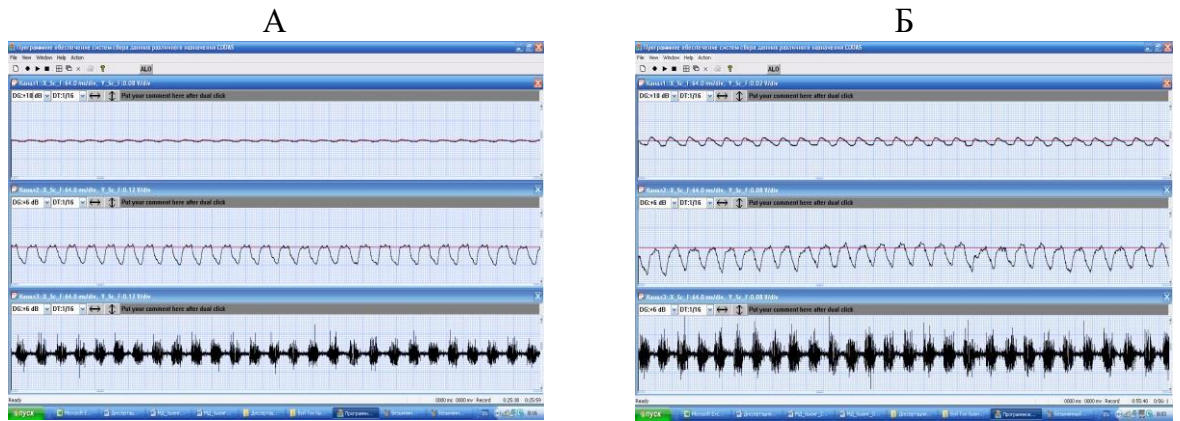


Рис. 3.2. Влияние ИЛ-1 $\beta$  на амплитуду инспираторных колебаний внутригрудного давления и электрическую активность диафрагмы.

А - нативные записи физиологических параметров в фоне, до введения ИЛ-1 $\beta$ .  
 Б - регистрация физиологических параметров через 40 минут после введения ИЛ-1.  
 На панелях: верхние кривые – инспираторные колебания ВГД, нижние кривые -

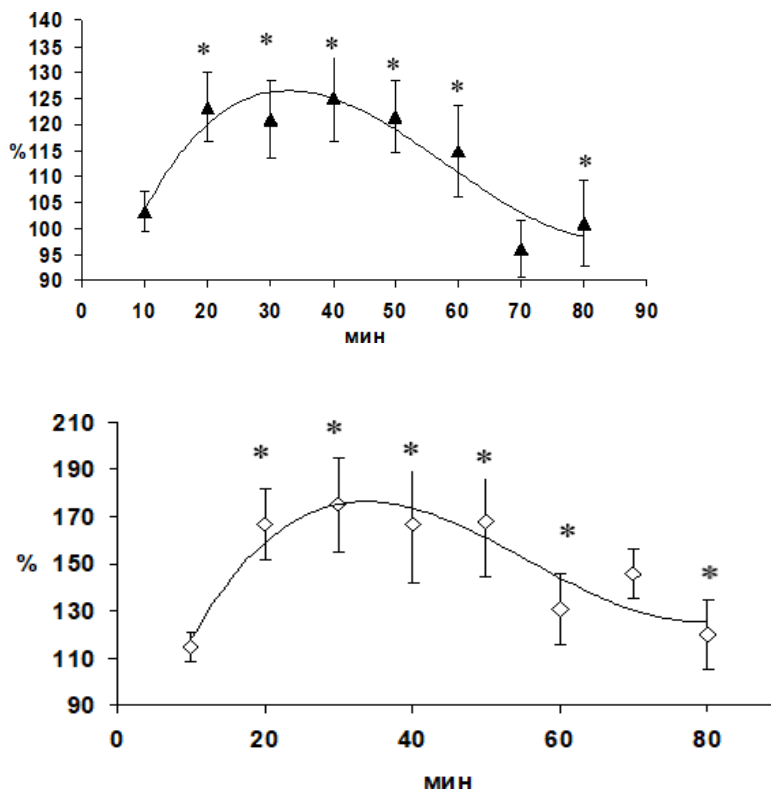


Рисунок 3.3. Влияние ИЛ-1 $\beta$  на амплитуду инспираторных колебаний внутригрудного давления (А) и электрическую активность диафрагмы (Б).

По осям ординат изменение учитываемых параметров в процентах к фону; по осям абсцисс время действия препарата. Звездочкой обозначено достоверное отличие от величин, зарегистрированных в фоне и при введении физиологического раствора ( $P < 0,05$ ).

Полученные результаты указывают на то, что увеличение силы сокращений ДМ, а вследствие этого и ДО, при действии провоспалительных цитокинов вызвано усилением их эфферентной активации, что предполагает участие иммунной системы в центральных механизмах регуляции дыхания.

### **3.2. Влияние повышения системного уровня ИЛ-1 $\beta$ на объемно-временные параметры дыхания.**

Введение ИЛ-1 $\beta$  в вену приводило к повышению его уровня в циркуляторном русле, что вызывало такие же изменения в величине респираторных параметров, как и повышение церебрального уровня ИЛ-1 $\beta$ . Динамика изменений объемно-временных параметров дыхания в первые минуты действия ИЛ-1 $\beta$  представлена на рис. 3.4.

Изменения в частоте дыхания при внутривенном введении ИЛ-1 $\beta$  наблюдались через 15 мин после начала введения и становились статически достоверными через 20 мин, превышая фоновые значения на  $10 \pm 3$  %. Увеличение ДО начиналось через 20 мин после введения ИЛ-1 $\beta$ , становясь статистически значимым через 35–40 мин и превышая фоновый уровень на  $36 \pm 6$  %. Рост дыхательного объема и частоты дыхания при внутривенном введении ИЛ-1 $\beta$  приводил к росту минутного объема дыхания. Достоверное увеличение МОД начиналось через 25 мин после начала введения ИЛ-1 $\beta$  и через 40 мин превышало фоновый уровень на  $27 \pm 7$  %.

Одновременно с изменениями объемно-временных параметров дыхания при внутривенном введении ИЛ-1 $\beta$  происходило усиление сокращений инспираторных мышц, что выражалось в увеличении амплитуды инспираторных колебаний внутригрудного давления, которое становилось статистически достоверным через 20 минут после начала введения препарата, превышая фоновый уровень на  $112 \pm 5$  %.

Введение в вену физиологического раствора не вызывало увеличения минутного объема дыхания, так как не оказывало влияния ни на частоту, ни на глубину дыхания. Средняя скорость инспираторного потока, отражающая величину центральной инспираторной активности, достоверно не менялась.

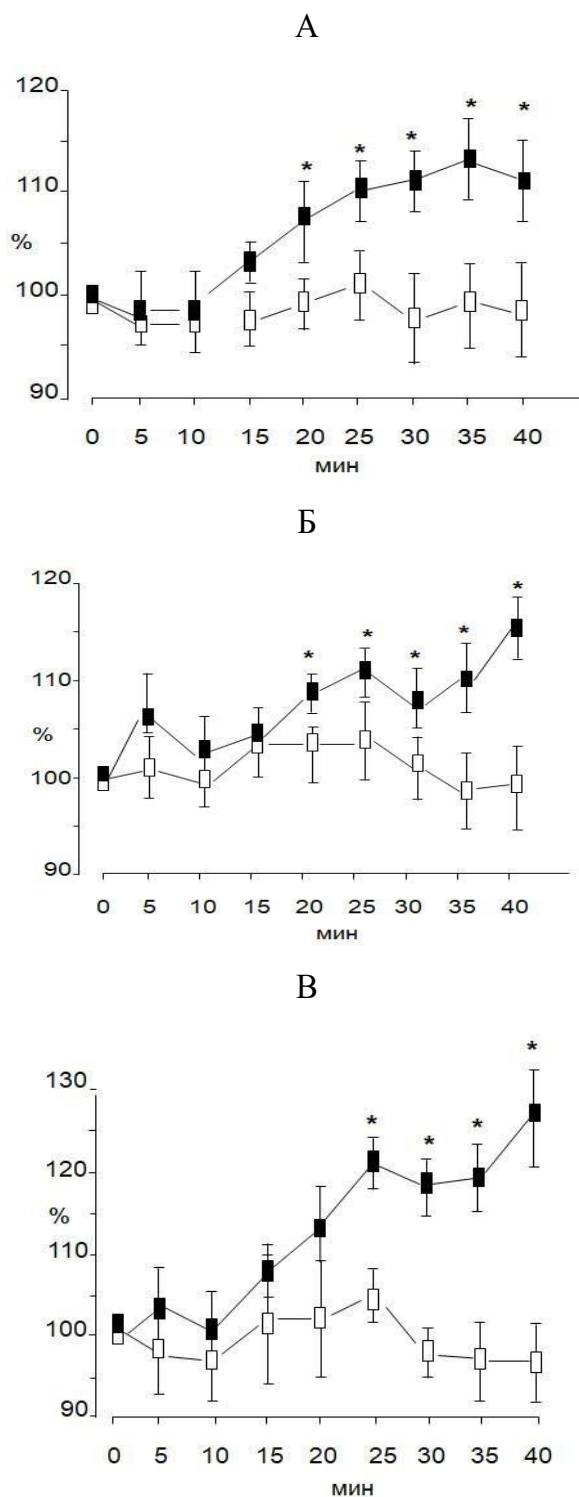


Рисунок 3.4. Изменение объемно-временных параметров дыхания после внутривенного введения ИЛ-1 $\beta$ .

По осям ординат изменение частоты дыхания (А), дыхательного объема (Б) и минутного объема дыхания (В) в процентах к фону; по осям абсцисс время действия препарата; черные квадраты – введение ИЛ-1 $\beta$ ; белые квадраты – введение физиологического раствора. Звездочкой обозначено достоверное отличие от величин, зарегистрированных в фоне и при введении физиологического раствора ( $P < 0,05$ ).

Таблица 3.2

Величина объемно-временных параметров дыхания до и после внутривенного введения ИЛ-1 $\beta$  и физиологического раствора

Параметр	ИЛ-1 $\beta$ , n=8			Плацебо (физ. р-р), n=8		
	фон	40 мин	60 мин	фон	40 мин	60 мин
ЧД, цикл/мин	113 $\pm$ 7	124 $\pm$ 9*	125 $\pm$ 8*	107 $\pm$ 2,0	105 $\pm$ 4	105 $\pm$ 2,6
ДО, мл	1,0 $\pm$ 0,08	1,36 $\pm$ 0,07*	1,4 $\pm$ 0,07*	1,0 $\pm$ 0,02	1,0 $\pm$ 0,08	1 $\pm$ 0,12
МОД, мл/мин	117,3 $\pm$ 10,6	143,6 $\pm$ 12,8*	146,9 $\pm$ 12,0*	100,55,2	97,5 $\pm$ 4,02	94 $\pm$ 10,5
Vинс, мл/с	3,8 $\pm$ 0,34	5,6 $\pm$ 0,26*	5,8 $\pm$ 0,23**	3,6 $\pm$ 0,36	3,5 $\pm$ 0,42	3,5 $\pm$ 0,12

**Примечание.** \* – достоверные изменения параметра по сравнению с фоном ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, системное введение физиологического раствора не оказывало влияние на показатели респираторной системы (таблица 3.2.).

### 3.3. Обсуждение

Данные полученные в первой серии экспериментов при введении ИЛ-1 $\beta$  в цереброспинальную жидкость свидетельствуют о влиянии данного цитокина на центральные механизмы регуляции паттерна дыхания. Наблюдалось достоверное увеличение средней скорости инспираторного потока, свидетельствующее об увеличении ЦИА, электрической активности диафрагмы, отрицательных величин внутригрудного давления, дыхательного объема, частоты дыхания и, как следствие, минутной вентиляции легких. Действие препарата продолжалось в течение 60-ти минут, затем наблюдалось постепенное возвращение величин регистрируемых параметров к исходному уровню. Важно обратить внимание на сходство в динамике изменений величины электрической активности диафрагмы, внутригрудного давления и дыхательного объема при действии ИЛ-1 $\beta$ , так как эти параметры функционально взаимосвязаны. Если вдох осуществляется в нормальных физиологических условиях, то изменение ЦИА, увеличение или уменьшение, вызывает соответствующее изменение электрической активности диафрагмы, что в свою очередь способствует такому же изменению, увеличению или уменьшению, отрицательной величины ВГД, которая определяет уже направление изменения величины дыхательного объема.

Наблюдаемое соответствие в динамике изменений данных параметров при действии ИЛ-1 $\beta$ , регистрируемых независимо друг от друга, указывает на адекватность выбранной нами модели для исследования механизмов действия ИЛ-1 $\beta$ .

Полученные данные указывают также на то, что ИЛ-1 $\beta$  способен увеличивать вентиляцию легких, действуя на обе составляющие минутного объема дыхания – как на дыхательный объем, так и на частоту дыхания. Однако, по результатам экспериментов видно, что в первой фазе ответа (первые 40 минут после введения ИЛ-1 $\beta$ ) наблюдалось одновременное увеличение показателей, отражающих величину ЦИА, ДО и ЧД. При этом изменения в частоте дыхания были менее выражены. В некоторых случаях наблюдалась лишь тенденция к учащению дыхания, но выявить достоверные изменения этого параметра не удавалось. Данный факт позволяет утверждать, что действие ИЛ-1 $\beta$  в первой фазе ответа реализовывалось в большей степени через нейроны дорсальной респираторной группы (ДРГ), что соответствует функциональным особенностям нейронов данной группы. Как известно, 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 установлено, что нейроны ДРГ участвуют, прежде всего, в формировании центральной инспираторной активности и в регуляции глубины дыхания, т.е. дыхательного объема, но практически не принимают участия 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 вентральная респираторная группа (ВРГ) нейронов дыхательного центра в большей мере связана с регуляцией частоты дыхания. Исходя из того можно предположить, что во второй фазе ответа в большей мере были задействованы нейроны ВРГ.

Данные, полученные во второй серии экспериментов, показывают, что увеличение системного уровня ИЛ-1 $\beta$  также способно изменять паттерн дыхания. При внутривенном введении ИЛ-1 $\beta$  был обнаружен такой же эффект,



как и при его интравентрикулярном введении. Анализ литературы позволяет предполагать, что механизм ответственный за изменение паттерна дыхания при периферическом, системном введении ИЛ-1 $\beta$  может быть таким же, как и при его церебральном введении. Дело в том, что, несмотря на то, что цитокины являются крупными полипептидными молекулами, которые в принципе не проходят через гематоэнцефалический барьер, цитокины, циркулирующие в кровяном русле все же могут оказывать свое действие на нервные клетки. Во-первых, показано, что для основных провоспалительных цитокинов ИЛ-1 и TNF- $\alpha$  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. Известно наличие аксональных проекций от area postrema, терминальной пластинки, супрафорникального органа, субкомиссурального органа, нейрогипофиза, шишковидной железы и срединного возвышения к ядру одиночного тракта (NTS). Данные проекции являются анатомическим путем, позволяющим циркулирующим медиаторам, выделяющимся в этих лишенных ГЭБ областях, передавать свои сигналы на нейроны ядра одиночного тракта (Van der Kooy, Koda 1994; Aylwin et.al, 1998; Chen, Bonham, 1998). Особенностью данных областей является высокая плотность капилляров и хорошая проницаемость эндотелия. Также было открыто, что ГЭБ практически отсутствует и в каудально-медиальной области самого NTS, там, где оканчиваются терминали афферентных волокон от механорецепторов легких и дыхательных путей. Данная область содержит хорошо фенестрированные капилляры, что позволяет цитокинам крови напрямую входить в периваскулярное пространство и взаимодействовать с нейронами NTS (Gross et.al., 1990). К тому же при повышении уровня циркулирующих провоспалительных цитокинов (ИЛ-6, TNF- $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$ ) происходит увеличение проницаемости ГЭБ, что делает возможным проникновение в ЦНС помимо самих цитокинов клеток, которые их продуцируют (макрофагов, моноцитов, лимфоцитов, нейтрофилов). Кроме того, известно, что увеличение уровня циркулирующих периферических цитокинов усиливает синтез церебральных

цитокинов. Поэтому циркулирующие воспалительные медиаторы могут влиять на нейроны NTS непосредственно через локальный синтез соответствующих цитокинов в клетках головного мозга (Maier et.al., 1998; Dantzer et.al., 2000; Gordon, 2000). Так, например, установлено, что интраперитонеальное введение ИЛ-1 $\beta$  увеличивает уровень матричной РНК ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$  и ИЛ-6 в ядре одиночного тракта, в гипоталамусе, гиппокампе, в соматосенсорной и инсулярной коре (Churchill et.al., 2006). Таким образом, анализ литературных данных позволяет предполагать, что обнаруженное нами влияние ИЛ-1 $\beta$  на паттерн дыхания при его системном введении могло определяться также, как и при церебральном введении, действием на нейроны 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 $\beta$ , который как было показано, способен стимулировать гломусные клетки каротидного тела. Известно, что каротидное тело отвечает на цитокиновую стимуляцию (Shu et al., 2007). В гломусных клетках каротидного тела экспрессируются рецепторы ИЛ-1 первого типа. При их взаимодействии с циркулирующим ИЛ-1 $\beta$  увеличивается скорость разрядов каротидного синусного нерва, иннервирующего этот орган. Аfferентная импульсация от периферических хеморецепторов, как известно, поступает в ДРГ, активируя  $\alpha$ -инспираторные нейроны и увеличивая, таким образом, ЦИА.

Увеличение «моторного выхода» дыхательного центра и частоты дыхания обнаруженное в наших экспериментах указывает на то, что экзогенное повышение уровня ИЛ-1 $\beta$  в организме усиливает центральную инспираторную активность и участвует в регуляции длительности дыхательных фаз. В целом полученные данные позволяют предполагать, что в центральные механизмы обнаруженного нами респираторного эффекта ИЛ-1 $\beta$  включены все нейронные группы дыхательного центра. В тоже время предполагается превалирование разных нейронных групп в динамике реализации респираторного ответа на ИЛ-1 $\beta$ . В первую фазу ответа в большей степени вовлечены нейроны ДРГ, активация которых усиливает центральную инспираторную активность и увеличивает ДО.

Во второй фазе ответа в большей степени активируются нейронные ядра ВРГ, замедляющие снижение МОД за счет увеличения частоты дыхания.

Таким образом, на основании полученных данных можно сделать следующие выводы:

1. Повышение уровня ИЛ-1 $\beta$  как в плазме крови, так и в цереброспинальной жидкости, оказывает влияние на объемно-временные параметры дыхания, вызывая увеличение частоты дыхания, дыхательного объема и минутного объема дыхания.
2. Одновременно с изменением объемно-временных параметров дыхания наблюдается усиление средней скорости инспираторного потока – показателя центральной инспираторной активности, а также электрической активности диафрагмы, что свидетельствует о влиянии ИЛ-1 $\beta$  на центральные механизмы регуляции паттерна дыхания.
3. Наличие изменений параметров дыхания при внутривенном, системном введении ИЛ-1 $\beta$  указывает на то, что гематоэнцефалический барьер не является препятствием для проявления его респираторных эффектов.

## **ГЛАВА 4 ВЛИЯНИЕ ИЛ-1 $\beta$ НА ОБЪЁМНО-ЗАВИСИМУЮ ОБРАТНУЮ СВЯЗЬ В СИСТЕМЕ ДЫХАНИЯ.**

На первом этапе исследования было установлено, что повышенное содержание ИЛ-1 $\beta$  в циркуляторном русле так же, как и в цереброспинальной жидкости оказывает выраженное влияние на основные функциональные параметры, характеризующие активность системы внешнего дыхания. При этом было показано, что одной из причин изменения паттерна дыхания при действии ИЛ-1 $\beta$  является его влияние на центральную инспираторную активность, величина которой определяется, прежде всего, уровнем хеморецепторной стимуляции. Основной задачей данного этапа явилось получение экспериментальных данных, доказывающих возможность влияния ИЛ-1 $\beta$  на механорецепторный контур регуляции дыхания, опосредующий существование объемно-зависимой обратной связи, также участвующей в регуляции частоты и глубины дыхания. С этой целью производилась оценка влияния ИЛ-1 $\beta$  на рефлексы Геринга-Брейера, в реализации которых основная роль отводится медленно адаптирующимся механорецепторам легких. Способ оценки силы данных рефлексов описан в главе «Методы исследования». В данной серии эксперимента было задействовано 13 крыс.

### **4.1. Модуляция силы рефлекса Геринга-Брейера при повышении церебрального уровня ИЛ-1 $\beta$ .**

Тестирование инспираторно-тормозящего рефлекса до и после церебровентрикулярного введения раствора, содержащего ИЛ-1 $\beta$ , позволило установить, что повышение его церебрального уровня усиливает эффект конечно-экспираторной окклюзии трахеи. Увеличение длительности и амплитуды инспираторных колебаний ВГД вызванное окклюзией на фоне действия ИЛ-1 $\beta$  было больше, чем до его введения (рис. 4.1). Расчеты показали, что через 20 минут после введения интерлейкина происходило достоверное увеличение нормированной продолжительности постокклюзионного вдоха (рис. 4.2).

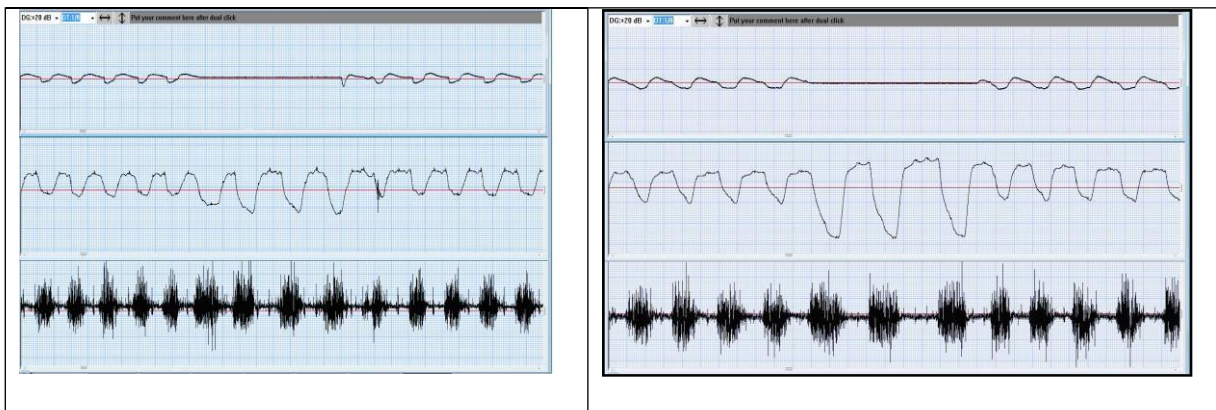


Рис. 4.1. Изменение паттерна дыхания наркотизированной крысы при окклюзии трахеи в конце выдоха до введения (левая панель) и через 20 минут после церебровентрикулярного введения (правая панель) ИЛ-1 $\beta$ .

Сверху вниз: пневматогограмма, внутригрудное давление, электрическая активность диафрагмы.

Если до введения препарата нормированная продолжительность первого постокклюзионного вдоха составляла  $225 \pm 22$  %, то через 20 минут после введения она увеличивалась до  $275 \pm 22$  %, а через 40 минут – уже до  $360 \pm 26$  %. Более длительное наблюдение показало, что через 70 минут от начала введения ИЛ-1 $\beta$  регистрируемый параметр возвращался к своим фоновым величинам. Введение физиологического раствора в контрольной серии экспериментов не вызывало достоверного изменения в нормированной длительности первого постокклюзионного вдоха. Полученные данные свидетельствуют об усилении инспираторно-тормозящего рефлекса Геринга-Брейера после повышения церебрального уровня ИЛ-1 $\beta$ .

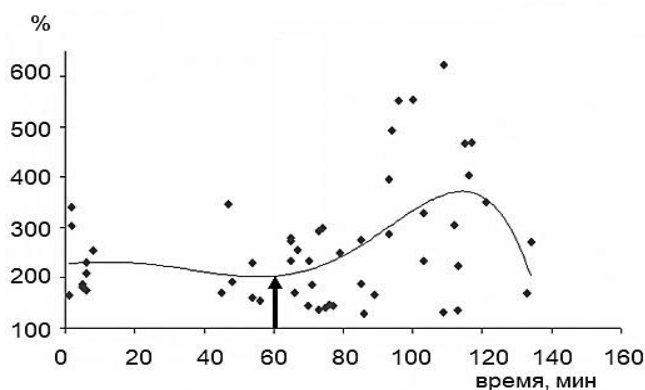
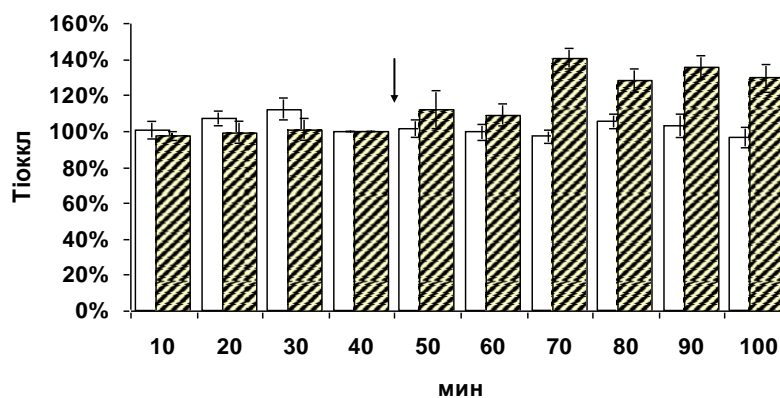


Рис. 4.2. Изменение силы инспираторно-тормозящего рефлекса Геринга-Брейера вдоха после церебровентрикулярного введения ИЛ-1 $\beta$ . Стрелкой на оси абсцисс – момент введения вещества. По оси ординат – нормированная длительность первого постокклюзионного вдоха. По оси абсцисс – время от начала эксперимента.

#### 4.2. Модуляция силы рефлекса Геринга-Брейера при повышении системного уровня ИЛ-1 $\beta$ .

Тестирование инспираторно-тормозящего рефлекса Геринга-Брейера до и после внутривенного введения ИЛ-1 $\beta$  показало достоверное увеличение продолжительности постокклюзионного вдоха после введения интерлейкина (рис. 4.3 А).

А



Б

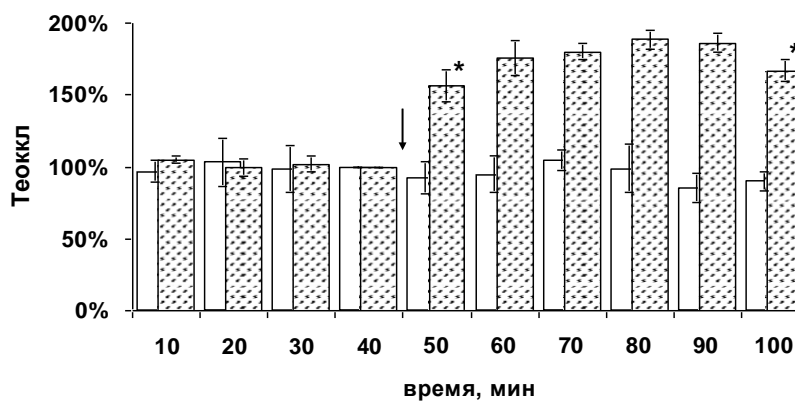


Рис. 4.3. Динамика силы рефлексов Геринга-Брейера при системном введении ИЛ-1 $\beta$  и физиологического раствора.

По оси ординат:  $T_i$  оккл – продолжительность постокклюзионного вдоха,  $T_e$  оккл – продолжительность постокклюзионного апноэ, выраженные в процентах к величине этих показателей на сороковой минуте эксперимента; по оси абсцисс – время от начала эксперимента. Заштрихованные столбики - экспериментальная серия с введением ИЛ-1 $\beta$ ; светлые столбики – контрольная серия с введением физиологического раствора. Стрелка – момент введения ИЛ-1 $\beta$  или физиологического раствора.

Максимальное увеличение этого параметра наблюдалось через 30 минут после введения ИЛ-1 $\beta$  и достигало  $140 \pm 5,9$  %. Достоверное превышение фонового и контрольного уровня данного параметра сохранялось в течение всего эксперимента. Ведение физиологического раствора в контрольной серии экспериментов не влияло на продолжительность постокклюзионных инспираторных попыток. Полученные данные свидетельствуют об усилении инспираторно-тормозящего рефлекса Геринга-Брейера после увеличения содержания ИЛ-1 $\beta$  в плазме крови.

При повышении системного уровня ИЛ-1 $\beta$  было также проведено тестирование экспираторно-облегчающего рефлекса (рис. 4.3 Б). Для оценки выраженности экспираторно-облегчающего рефлекса 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 уже через 10 мин после введения ИЛ-1 $\beta$ . Через 40 минут после введения препарата нормированная величина этого параметра превышала свои исходные значения на 95%, т.е. возрастала почти в два раза, что свидетельствует об усилении экспираторно-облегчающего рефлекса Геринга-Брейера.

### **4.3. Обсуждение.**

Экспериментальные данные, полученные в этом разделе исследований, свидетельствуют о том, что увеличение уровня ИЛ-1 $\beta$ , как в цереброспинальной жидкости, так и в плазме крови вызывает изменение не только паттерна дыхания, но и рефлекторных механизмов, участвующих в его регуляции. Как известно, режим смены дыхательных фаз должен соответствовать метаболическим потребностям организма. При этом частота и глубина дыхания регулируются таким образом, что энергия, расходуемая дыхательными мышцами на поддержание требуемой вентиляции, оказывается минимальной при данных биомеханических условиях (Otis et.al., 1950). При выполнении тяжелой физической работы или при дыхании с повышенным сопротивлением удлинение вдоха и увеличение дыхательного объема происходит мгновенно, в

первом же дыхательном цикле после предъявления нагрузки, когда газовый состав крови еще не изменился. Эти изменения в паттерне дыхания опосредуются рефлексамии с механорецепторов легких (рефлекс Геринга-Брейера) и дыхательных мышц. Наши эксперименты показали, что резкое увеличение системного и церебрального уровня ИЛ-1 $\beta$ , характерное для развития системной воспалительной реакции, вызывает усиление рефлексов Геринга-Брейера, опосредующих объемно-зависимую обратную связь в системе дыхания и участвующих в механизме смены дыхательных фаз. Отмеченное увеличение частоты дыхания при действии ИЛ-1 $\beta$ , по всей вероятности, является следствием усиления инспираторно-тормозящего рефлекса, реализация которого при активации медленно адаптирующихся рецепторов растяжения вызывает торможение вдоха и досрочную смену дыхательных фаз.

Результаты исследования указывают также на влияние ИЛ-1 $\beta$  на экспираторно-облегчающий рефлекс. При увеличении объема легких сверх ФОЕ импульсы рецепторов растяжения легких увеличивают длительность выдоха. Если перекрыть воздухоносные пути на вершине вдоха и не дать легким возможности уменьшить свой объем, следующий выдох окажется удлинненным - экспираторно-облегчающий рефлекс Геринга-Брейера. Усиление раздражения рецепторов растяжения при раздувании легких во время экспирации вызывает ее удлинение, возникает так называемое «вагусное апноэ» (Фельбербаум, 1973). Экспираторно-облегчающий рефлекс обнаруживается обычно в ходе специального эксперимента. Однако он может проявиться и в реальных условиях, например, во время аппаратного дыхания, при искусственной вентиляции легких. В соответствии с результатами наших экспериментов, вагусное апноэ будет значительно удлиняться в условиях гиперцитокинемии.

Мы предполагаем, что обнаруженные нами респираторные эффекты ИЛ-1 $\beta$  связаны с его влиянием на центральные механизмы, опосредующие объемно-зависимую обратную связь в системе дыхания. Это предположение основано на способности цитокинов выполнять функцию медиаторов нейроиммунных взаимодействий в ЦНС. Участвуя в не синаптическом 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. Биологические эффекты цитокинов опосредуются через специфические клеточные рецепторные комплексы. Установлено, что ИЛ-1 $\beta$  может синтезироваться в мозгу нейронами, глиальными и эндотелиальными клетками. Кроме того, в различных структурах головного мозга показано наличие экспрессии функционально активных рецепторов ИЛ-1 первого типа. Значительное количество таких рецепторов обнаружено в ядре одиночного тракта, в области которого расположена, как известно, дорсальная респираторная группа нейронов дыхательного центра. Это позволяет предположить, что в наших экспериментах ИЛ-1 $\beta$ , введенный в боковые желудочки мозга, достигая с током ликвора дна четвертого желудочка мог оказывать прямое влияние на нейронные структуры дыхательного центра, в том числе и на центральный механизм дыхательных рефлексов.

Установлено, что цитокины могут взаимодействовать с различными медиаторными системами. В частности ИЛ-1 $\beta$ , как и другие провоспалительные цитокины, способен модулировать активность возбуждающих глутаматергических механизмов в ЦНС (Chao et.al., 1995). В свою очередь глутамат является медиатором в синапсах, которые образованы афферентами медленно адаптирующихся механорецепторов воздухоносных путей на так называемых *pump*-клетках, расположенных в ядре одиночного тракта (NTS) (Bonham et.al., 1993; Miyazaki et.al., 1999; Kubin et.al., 2006). В рефлекторной дуге инспираторно-тормозящего рефлекса Геринга-Брейера *Pump*-клетки являются нейронами второго порядка (Bonham, McCrimmon, 1990; Miyazaki, 1999; Kubin et.al., 2006). Это позволяет предполагать, что выявленное нами усиление инспираторно-тормозящего рефлекса под действием ИЛ-1 $\beta$  было связано с активацией глутаматергических механизмов на бульбарном уровне. Кроме того, через посредство глутаматергической системы мозга возможна и кортикальная модуляция дыхательных рефлексов, что было показано в наших недавних исследованиях (Александрова и др., 2008; Aleksandrov и др., 2009; Александров и др., 2012).

Обнаруженные нами респираторные эффекты ИЛ-1 $\beta$  могут иметь и более сложный механизм действия, связанный с индукцией посредников – вторичных мессенджеров, образование которых является результатом цитокин-

рецепторного взаимодействия на клеточных элементах мозга (Ericsson et.al., 1995). В качестве таких посредников могут выступать оксид азота (NO) и простагландины (PG). Они в большом количестве экспрессируются периваскулярными клетками и клетками церебрального эндотелия при активации имеющихся здесь цитокиновых рецепторов (Wong et.al., 1995; Nadeau, Rivest, 1999). 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.

Итак, результаты проведенного экспериментального исследования указывают на возможность модуляции силы рефлексов Геринга-Брейера под действием ИЛ-1 $\beta$ , что свидетельствует о его участии в механорецепторном контроле, обеспечивающим реализацию объемно-зависимой обратной связи в системе дыхания. Полученные данные позволяют предполагать, что не только экспериментальное экзогенное увеличение церебрального уровня провоспалительных цитокинов но и их эндогенная экспрессия, наблюдаемая в патологических условиях, также может оказывать модулирующее влияние на паттерн и рефлекторные механизмы регуляции дыхания.

\* \* \*

Полученные экспериментальные данные позволяют сделать следующие выводы:

1. Провоспалительные цитокины могут участвовать в механорецепторном контроле дыхания посредством модуляции объемно-зависимой обратной связи.
2. Экзогенное повышение содержания ИЛ-1 $\beta$ , как в цереброспинальной жидкости, так и в плазме крови вызывает усиление инспираторно-тормозящего рефлекса Геринга-Брейера.
3. При повышении системного уровня ИЛ-1 $\beta$  наблюдается усиление экспираторно-облегчающего рефлекса, что выражается в удлинении так называемого «вагусного апноэ».

## ГЛАВА 5. ЦИКЛООКСИГЕНАЗНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕАЛИЗАЦИИ РЕСПИРАТОРНЫХ ЭФФЕКТОВ ИЛ-1 $\beta$ .

В предыдущих главах излагались результаты исследований, в которых было показано, что увеличение как церебрального, так и системного уровня ИЛ-1 $\beta$  влияет на паттерн дыхания и усиливает рефлексы Геринга-Брейера. В других исследованиях было показано, что повышение церебрального уровня ИЛ-1 $\beta$  изменяет также вентиляторный ответ на гиперкапнию и гипоксию (Aleksandrova, Danilova, 2010; Aleksandrova et al., 2015; 2017). Эти данные прямо указывают на участие ИЛ-1 $\beta$  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 данного этапа диссертационной работы явилось выяснение механизмов, посредством которых повышение периферического уровня ИЛ-1 $\beta$  оказывает влияние на рефлекторную регуляцию дыхания. Мы предположили, что таким механизмом может быть активация системы вторичных мессенджеров, роль которых в данном случае могут выполнять простагландины. Это предположение основано на том, что взаимодействие молекул ИЛ-1 $\beta$  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 $\beta$  исследовались на фоне действия диклофенака, препарата ослабляющего активность фермента циклооксигеназы и снижающего эндогенный синтез простагландинов. Для реализации данной серии экспериментов было задействовано 29 крыс.

### 5.1. Влияние диклофенака на параметры внешнего дыхания и рефлекс Геринга-Брейера.

Прежде чем приступить к решению основной задачи экспериментального исследования – изучению влияния диклофенака на респираторные эффекты системного введения ИЛ-1 $\beta$ , 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 объёмно-зависимой обратной связи в респираторной системе анестезированной крысы при спокойном дыхании.

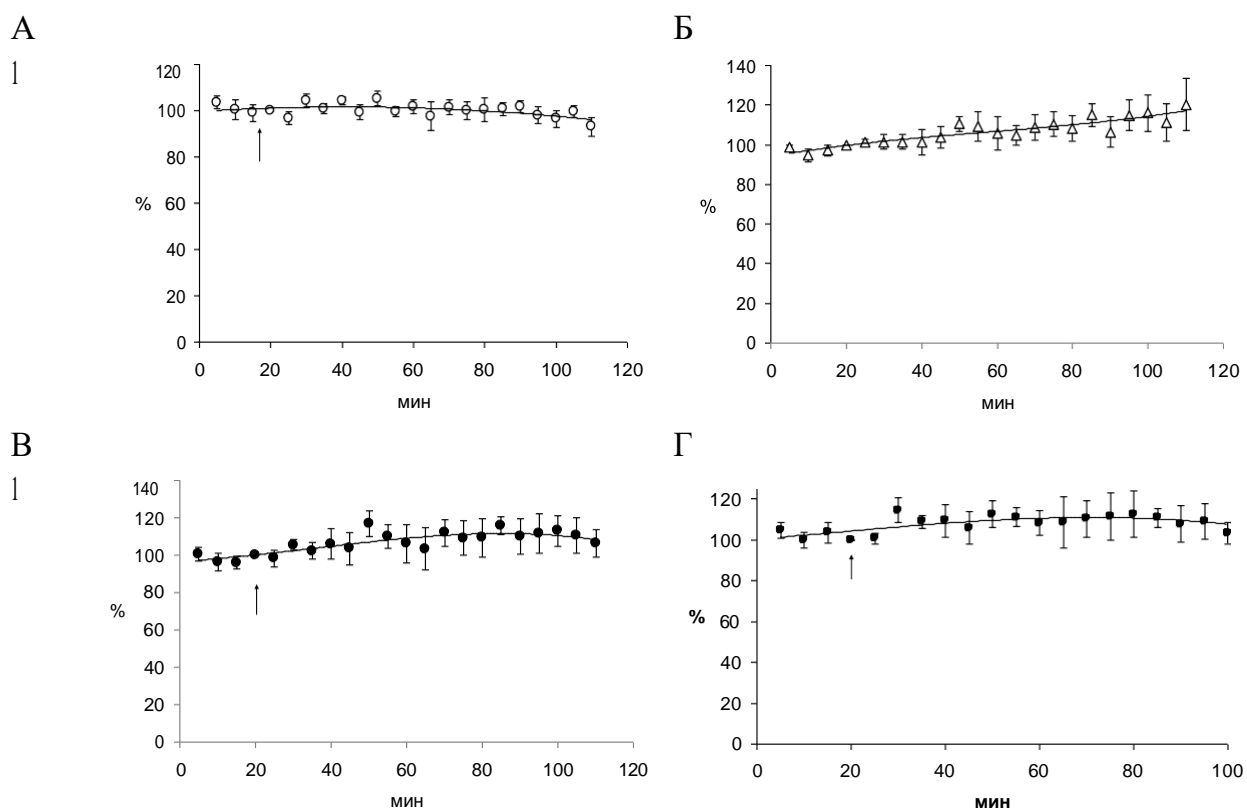


Рисунок 5.1. Динамика объёмно-временных параметров дыхания при внутрибрюшинном введении диклофенака.

А, Б, В и Г соответственно дыхательный объём, частота дыхания, вентиляция (минутный объём дыхания) и средняя скорость инспираторного потока.

По оси абсцисс: продолжительность регистрации физиологических параметров в минутах. Стрелка – момент введения диклофенака. Эксперименты показали, что диклофенак в использованной дозировке не оказывал достоверного влияния на объемно-временные параметры дыхания (рис.5.1). Наблюдалась лишь небольшая тенденция к увеличению частоты дыхания и скорости 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 объёмно-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 внутрибрюшинного введения диклофенака (рис. 5.2.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 (рис. 5.2.Б).

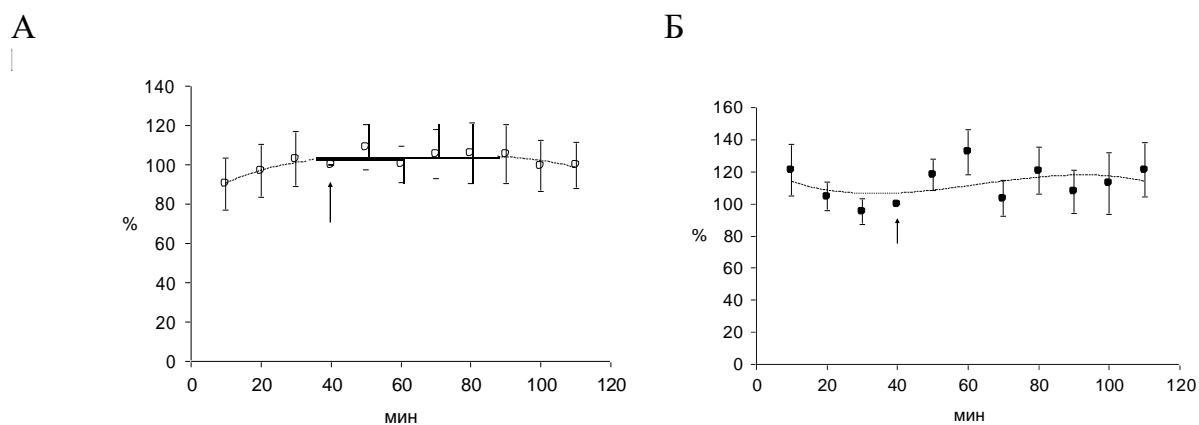


Рисунок 5.2. Динамика силы инспираторно-тормозящего (А) и экспираторно-облегчающего (Б) рефлексов Геринга-Брейера при внутрибрюшинном введении диклофенака.

По оси ординат: нормированные показатели силы инспираторно-тормозящего (А) и экспираторно-облегчающего (Б) рефлексов. Остальные обозначения как на рис. 5.1.

Таким образом, было установлено, что внутрибрюшинное введение диклофенака, ингибитора фермента циклооксигеназы и эндогенного синтеза простагландинов не оказывает значимого влияния на паттерн дыхания и силу рефлексов Геринга-Брейера при спокойном дыхании.

## 5.2. Влияние ИЛ-1 $\beta$ на паттерн дыхания на фоне действия диклофенака.

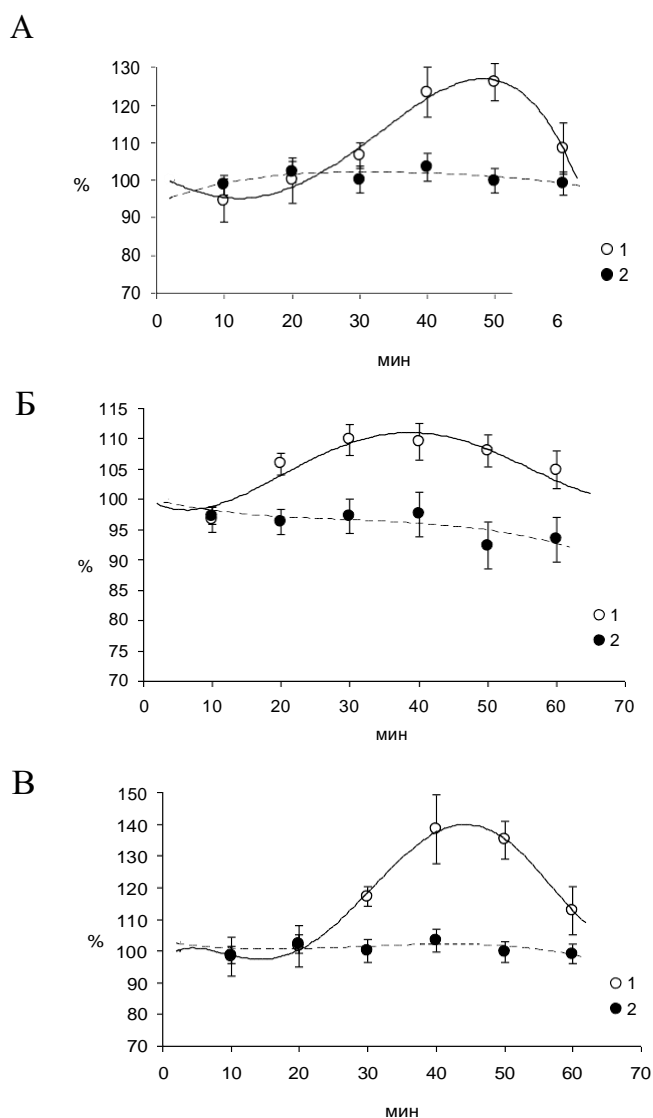


Рисунок 5.3. Изменение объемно-временных параметров дыхания после введения ИЛ-1 $\beta$ .

По оси абсцисс: продолжительность действия ИЛ-1 $\beta$  в минутах.

1 – изменение регистрируемых параметров после внутривенного введения ИЛ-1 $\beta$ . 2 -изменение регистрируемых параметров после сочетанного действия ИЛ-1 $\beta$  и диклофенака (внутрибрюшинное введение). Остальные обозначения как на рис. 5.1.

После внутрибрюшинного введения диклофенака повышение системного уровня ИЛ-1 $\beta$  не вызывало достоверного увеличения частоты дыхания и роста дыхательного объема (рис.5.3 А, Б). Вследствие отсутствия частотных и объемных изменений в паттерне дыхания не наблюдалось и увеличения вентиляции легких (рис. 5.3 В).

Достоверных изменений в величине объемно-временных параметров дыхания не отмечалось даже через 40 минут действия ИЛ-1 $\beta$ , когда его эффект был максимальным при его введении без диклофенака. Полученные данные указывают на то, что торможение циклооксигеназных путей синтеза простагландинов устраняет влияние ИЛ-1 $\beta$ , как на частотный, так и на объемный компонент вентиляции легких.

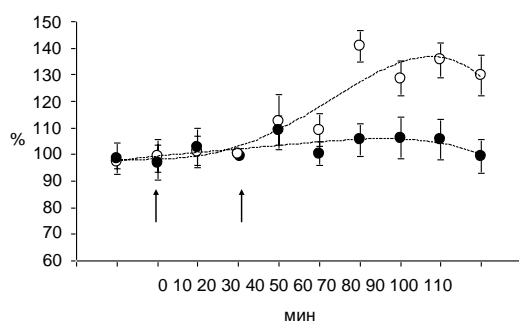
### **5.3. Влияние ИЛ-1 $\beta$ на силу рефлексов Геринга-Брейера на фоне действия диклофенака.**

Тестирование инспираторно-тормозящего рефлекса Геринга-Брейера показало, что повышение системного уровня ИЛ-1 $\beta$  на фоне действия диклофенака не вызывало каких-либо изменений в продолжительности постокклюзионных вдохов. На рис. 5.4 А показана динамика нормированных значений этого показателя при повышении системного уровня ИЛ-1 $\beta$  в обычных условиях, а также на фоне действия диклофенака. За 100% принята продолжительность постокклюзионного вдоха непосредственно перед внутривенным введением ИЛ-1 $\beta$ , т.е. на 40-й минуте эксперимента. Как видно, действие диклофенака полностью устраняет влияние ИЛ-1 $\beta$  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. В предыдущей главе диссертации было показано, что длительность вагусного апноэ достоверно возрастает на фоне действия ИЛ-1 $\beta$ . Через 50 минут после введения данного цитокина нормированная величина этого параметра превышала свои исходные значения на 95%, т.е. возростала почти в два раза, что свидетельствует об усилении экспираторно-облегчающего рефлекса Геринга-

Брейера (рис. 5.4 Б). Сочетанное действие ИЛ-1 $\beta$  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 $\beta$  на экспираторно-облегчающий рефлекс.

А



Б

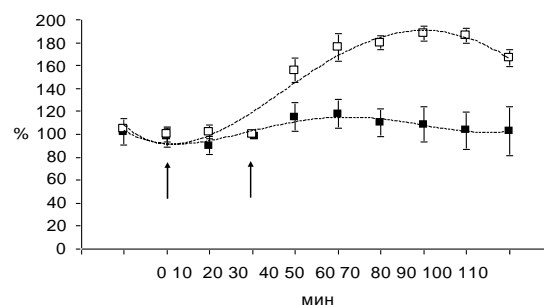


Рисунок 5.4. Изменение силы инспираторно-тормозящего (А) и экспираторно-облегчающего (Б) рефлексов Геринга-Брейера под влиянием ИЛ-1 $\beta$  на фоне действия диклофенака и в экспериментах с введением физраствора.

По оси ординат: нормированные показатели силы рефлексов. Первая стрелка – введение диклофенака (или физраствора), вторая стрелка – введение ИЛ-1 $\beta$ . Светлые значки – эксперименты с предварительным введением физраствора, тёмные – с предварительным введением диклофенака.



#### 5.4. Обсуждение.

Современными исследованиями показано, что повышение системного уровня ИЛ-1 $\beta$  вызывает активацию нейронов в респираторно зависимых районах мозгового ствола (Ericsson et.al., 1994). В тоже время Интерлейкин-1бета, 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 $\beta$  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 $\beta$  лежит непрямой механизм, связанный с активацией системы вторичных мессенджеров при цитокин-рецепторном взаимодействии на клеточных элементах мозга. Полученные нами экспериментальные данные показывают, что в реализации респираторных эффектов цитокинов роль таких посредников могут выполнять простагландины (PG) (эйкосаноиды, производные арахидоновой кислоты). Они в большом количестве экспрессируются периваскулярными, эндимными клетками и клетками церебрального эндотелия при активации имеющихся здесь цитокиновых рецепторов (Wongetal., 1995). Как известно, ИЛ-1 $\beta$  взаимодействуя с соответствующим мембранным рецептором (ИЛ-1R1), индуцирует активность COX-2 и микросомальной синтазы-1 простагландина E (mPGES-1). COX-2 катализирует образование простагландина H<sub>2</sub> (PGH<sub>2</sub>) из арахидоновой кислоты, а mPGES-1 катализирует синтез простагландина E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) из PGH<sub>2</sub>. 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 $\beta$  на объемно-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 $\beta$  является синтез PGE<sub>2</sub>.

Вывод о том, что ИЛ-1 $\beta$  действует на механизмы регуляции дыхания не прямо, а опосредовано подтверждается экспериментальными данными и других авторов. Так, например, было показано, что системное введение ИЛ-1 $\beta$  индуцирует экспрессию средне-раннего гена *c-fos*, в ряде структур головного

мозга, в том числе в ядре одиночного тракта, в латеральных парабрахмиальных ядрах, в вентролатеральном отделе продолговатого мозга, т.е. в тех областях, где расположены дыхательные нейроны (Ericsson et.al., 1995). 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 $\beta$  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-1 $\beta$  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-1 $\beta$  на центральные механизмы регуляции дыхания не может реализовываться через прямое влияние ИЛ-1 $\beta$  на респираторные нейроны. Необходимы посредники, участвующие в передаче цитокинового сигнала.

Механизмы, которые активируются ИЛ-1 $\beta$  и опосредуют его биологические эффекты, являются комплексными и до конца не изученными. Предполагается, что влияние ИЛ-1 $\beta$  на физиологические функции опосредуются множественными путями. Он может действовать через высвобождение простаноидов, норэпинефрина, кортикотропинрилизинг фактора, оксида азота (Graff, Gozal, 1999; Nakamori et.al, 1993; Watanabe et.al, 1996). В соответствии с нашими данными в реализации респираторных влияний ИЛ-1 $\beta$ , по-видимому, в большей степени участвуют простаноид зависимые механизмы. Индукция PGE<sub>2</sub>, является, вероятно, одним из основных специфических механизмов, посредством которого ИЛ-1 $\beta$  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 ИЛ-1 $\beta$  вызывает индукцию COX-2 и высвобождение PGE<sub>2</sub> в нейрональных и глиальных клетках ганглия. При этом высвободившийся PGE<sub>2</sub> в свою очередь активирует тригеминальные нейроны. Установлена зависимость этого эффекта от дозы ИЛ-1 $\beta$  и от времени его действия (Neebetal, 2011). Результаты нашего

исследования, показывающие практически полное исчезновение модуляции паттерна дыхания и дыхательных рефлексов в том случае, когда ИЛ-1 $\beta$  вводился в кровеносное русло на фоне действия диклофенака, позволяют предположить аналогичный механизм и для влияния ИЛ-1 $\beta$  на респираторные нейроны. Цепочку событий, происходящих после повышения системного уровня ИЛ-1 $\beta$ , можно описать следующим образом. Увеличение содержания Интерлейкин-1бета в крови способствует индукции COX-2 эндотелием церебральных сосудов, имеющим большое количество рецепторов ИЛ-1. В результате усиливается синтез PGE<sub>2</sub>, молекулы которого высвобождаются в межклеточное пространство и оказывают действие на нейроны (в том числе и респираторные), имеющие рецепторы к PGE<sub>2</sub>. Это так называемые EP3 рецепторы, высокий уровень экспрессии которых обнаруживается в области ядра одиночного тракта, амбигуального ядра, прабрахимальных 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 микрограммов PGE<sub>2</sub>, через 30 мин после введения обнаруживается сильный положительный сигнал мРНК кодирующей ранний ген *c-fos* в ядре одиночного тракта, в моторном ядре вагуса, в дорсальном отделе амбигуального ядра (Lacroix et.al, 1996). Эти данные обеспечивают анатомическое доказательство того, что центральная инъекция PGE<sub>2</sub> вызывает специфическую и селективную экспрессию *c-fos* в тех структурах мозга, которые участвуют в регуляции дыхания. Предполагается также, что простагландин E<sub>2</sub> может быть ключевым регулятором респираторных ответов на инфекцию и гипоксию у новорожденных (Hofstetter et.al., 2007; Olsson et.al.,2003). Результаты нашего исследования существенно дополняют эти данные, т.к. 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 респираторные эффекты, вызываемые повышением системного уровня ИЛ-1 $\beta$ ,

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.

\*\*\*

Полученные данные позволяют сделать следующие выводы:

1. Влияние ИЛ-1 $\beta$  на паттерн дыхания и рефлексы Геринга-Брейера не проявляются на фоне ингибирования циклооксигеназной активности, свидетельствуя о том, что в основе модулирующих влияний провоспалительных цитокинов на рефлекторный контроль дыхания лежит усиление синтеза простагландинов.
2. В системе регуляции внешнего дыхания простагландины являются активными передатчиками цитокинового сигнала на нейроны, участвующие в модуляции механорецепторного контроля дыхания.
3. При спокойном дыхании в нормальных условиях простагландины не участвуют в рефлекторных механизмах регуляции дыхания, о чем свидетельствует отсутствие значимых изменений в объемно-временных параметрах дыхания и силе дыхательных рефлексов при внутрибрюшинном введении диклофенака.

## ГЛАВА 6. УЧАСТИЕ NO-ЗАВИСИМЫХ МЕХАНИЗМОВ В РЕАЛИЗАЦИИ РЕФЛЕКТОРНЫХ ВЛИЯНИЙ ИЛ-1 $\beta$ .

В соответствие с нашими данными и данными других исследователей в реализации респираторных влияний ИЛ-1 $\beta$  в большой степени участвуют простаноид-зависимые механизмы (Olsson et.al., 2003; Hofstetter et.al., 2007; Herlenius, 2011; Aleksandrova et.al., 2015). Активация циклооксигеназы и усиление синтеза простагландинов является, вероятно, одним из основных специфических механизмов, посредством которого ИЛ-1 $\beta$  может влиять на функцию респираторных нейронов и изменять функциональное состояние дыхательной системы. Однако известно, что влияние ИЛ-1 $\beta$  на физиологические функции может быть опосредовано множественными путями, через высвобождение как простаноидов, так и норэпинефрина, кортикотропинрилизинг фактора, оксида азота (Nakamori et.al., 1993; Watanabe et.al., 1996; Graff, Gozal, 1999; Herlenius, 2011). Это позволяет предполагать, что усиление синтеза оксида азота клетками цереброваскулярного эндотелия, которое происходит при повышении содержания ИЛ-1 $\beta$  в циркуляторном русле, может оказаться еще одним механизмом, в дополнение к циклооксигеназному механизму, опосредующим влияние воспаления на респираторную функцию. Небольшая липофильная молекула NO свободно проникая через гематоэнцефалический барьер может выполнять роль вторичного мессенджера и изменять состояние нервных клеток, в том числе и респираторных нейронов, участвующих в центральной регуляции дыхания.

Целью данной части исследования явилась проверка этого предположения и исследование возможного участия NO-ергических механизмов в реализации влияния повышенного системного уровня ИЛ-1 $\beta$  на паттерн дыхания и объёмно-зависимую обратную связь в системе дыхания. Для достижения этой цели было изучено влияние внутривенного введения ИЛ-1 $\beta$  на объёмно-временные параметры дыхания и силу рефлекса Геринга-Брейера на фоне действия N-нитро-L-аргинин метилэфира (L-NAME) – неспецифического блокатора NO-синтазы, фермента, который катализирует трансформацию L-аргинина в L- цитруллин и газообразные медиаторы NO. Как известно, L-NAME широко применяется в

экспериментальной практике для снижения уровня эндогенного NO при исследовании NO-ергических механизмов, участвующих в регуляции функций различных физиологических систем. L-NAME предотвращает проникновение в клетки L-аргинина и ингибирует его взаимодействие с любыми изоформами NO-синтаз, что уменьшает синтез эндогенного оксида азота. Для реализации данной части диссертационной работы было использовано 34 животных.

### **6.1. Влияние L-NAME - ингибитора NO синтазы, на паттерн дыхания и инспираторно-тормозящий рефлекс Геринга-Брейера. Результаты контрольных экспериментов.**

Было установлено, что динамика ЧДД в экспериментах с введением L-NAME соответствовала динамике этого показателя в контрольных экспериментах с введением физиологического раствора (Рис. 6.1,А). Сопоставление нормированных величин этого показателя показало отсутствие достоверных отличий между результатами, полученными в контрольных экспериментах и в экспериментах с введением L-NAME. Такой же вывод можно сделать и в отношении динамики других параметров дыхания – ДО и МОД. Сопоставление результатов контрольных экспериментов и экспериментов с введением L-NAME показало отсутствие между ними статистически значимых различий по нормированной величине ДО и МОД (Рис. 6.1, Б,В ). Отмечалась небольшая тенденция к росту объемно-временных параметров дыхания с течением времени. Однако она была характерна как для экспериментальных, так и для контрольных серий экспериментов.

Средняя величина нормированной длительности первого окклюзионного вдоха, характеризующая силу инспираторно-тормозящего рефлекса, также не изменялась достоверно после введения L-NAME. Ее величина в течение всего эксперимента после введения L-NAME колебалась в пределах от 95% до 105% по отношению к величине, зафиксированной до введения вещества.

Таким образом, было установлено, что системное введение L-NAME не оказывает влияния на объемно-временные параметры дыхания и силу инспираторно-тормозящего рефлекса, поскольку их значения после введения этого вещества не отличаются от контрольных величин (рис. 6.2).

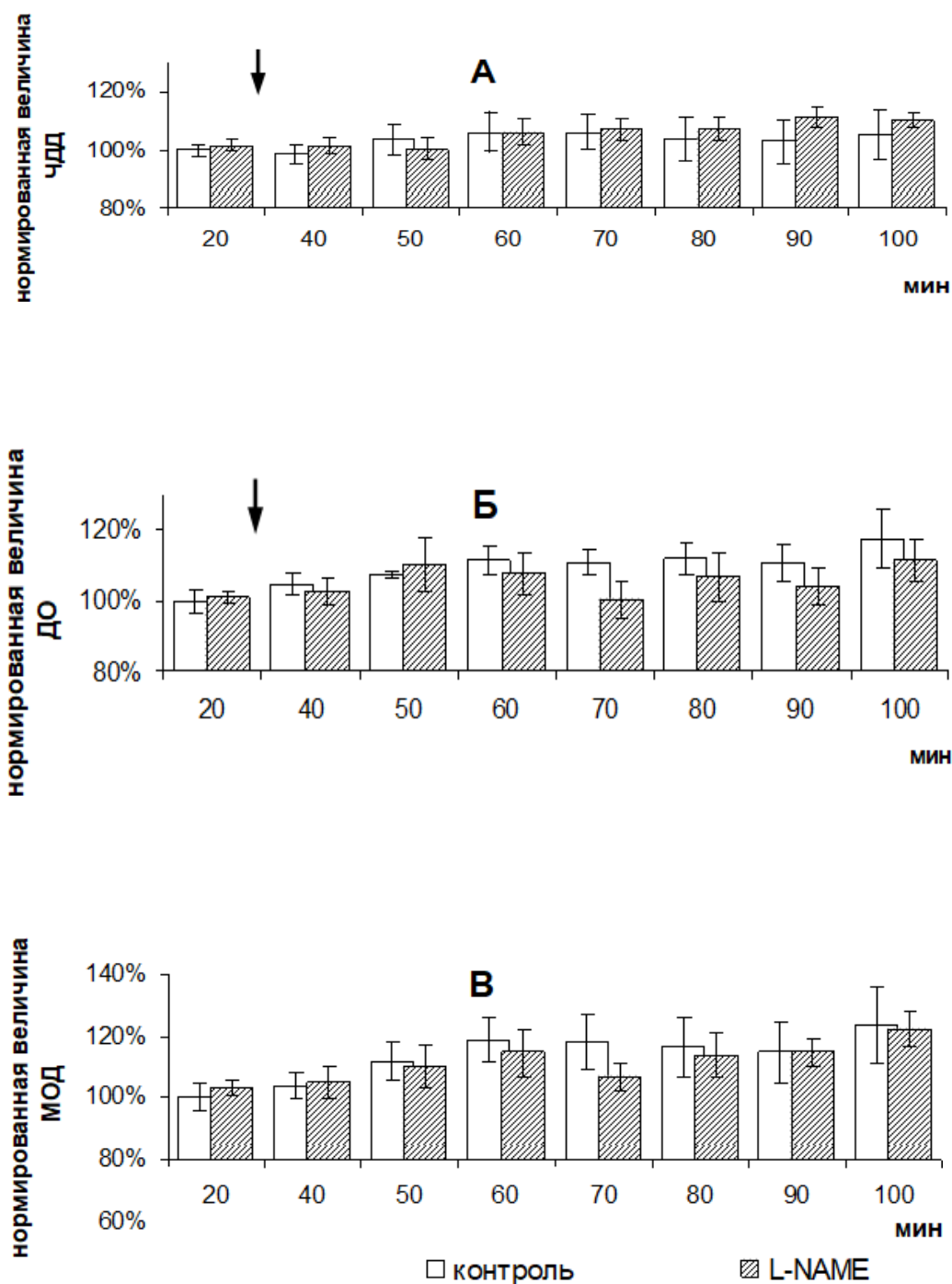


Рис. 6.1. Динамика объёмно-временных параметров дыхания после введения физиологического раствора и L-NAME.

А – изменение частоты дыхательных движений, Б – изменение дыхательного объёма, В – изменение вентиляции.

По оси абсцисс – время от начала эксперимента, показатели нормированы относительно их величины на 30-й минуте регистрации, непосредственно перед введением раствора. Стрелкой указан момент введения растворов.

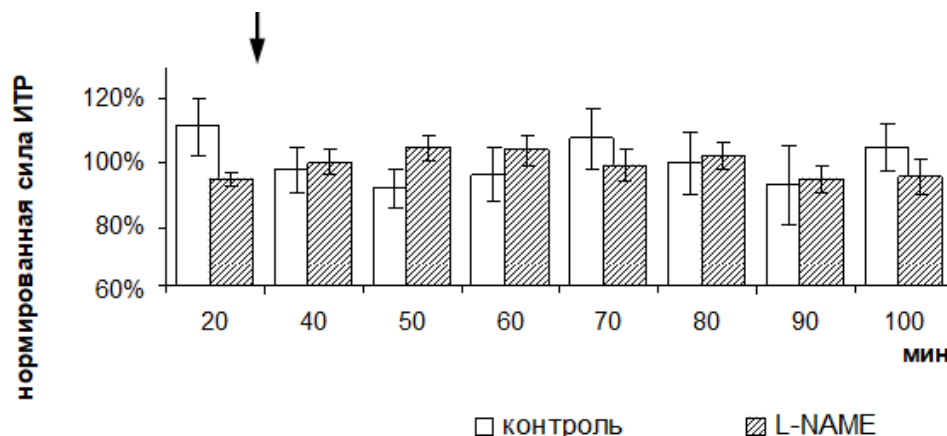


Рис. 6.2. Динамика силы инспираторно-тормозящего рефлекса после введения физиологического раствора и L-NAME.

Показатель силы ИТР нормирован относительно его величины на 30-й минуте регистрации. Стрелкой указан момент введения физиологического раствора или L-NAME.

### 6.2 Результаты экспериментов с введением ИЛ-1 $\beta$ на фоне действия L-NAME.

В данной серии экспериментов введение Интерлейкин-1бета производилось через 10 минут после введения L-NAME. При этом было установлено, что динамика изменения объемно-временных параметров дыхания после введения ИЛ-1 $\beta$  на фоне действия L-NAME соответствовала динамике зарегистрированной в экспериментах с введением только ИЛ-1 $\beta$ .

Так, изменения ЧДД начинались на 20-й минуте после введения ИЛ-1 $\beta$  и на 40-й минуте достигали значений, которые были достоверно выше, чем фоновые (Рис. 6.3.А). На 40-й минуте после введения ИЛ-1 $\beta$  на фоне действия L-NAME наблюдалось также достоверное увеличение нормированной величины ДО (Рис. 6.3.Б) и МОД (Рис. 6.3.В). Таким образом, полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что L-NAME не устраняет влияния ИЛ-1 $\beta$  на объемно-временные параметры дыхания.



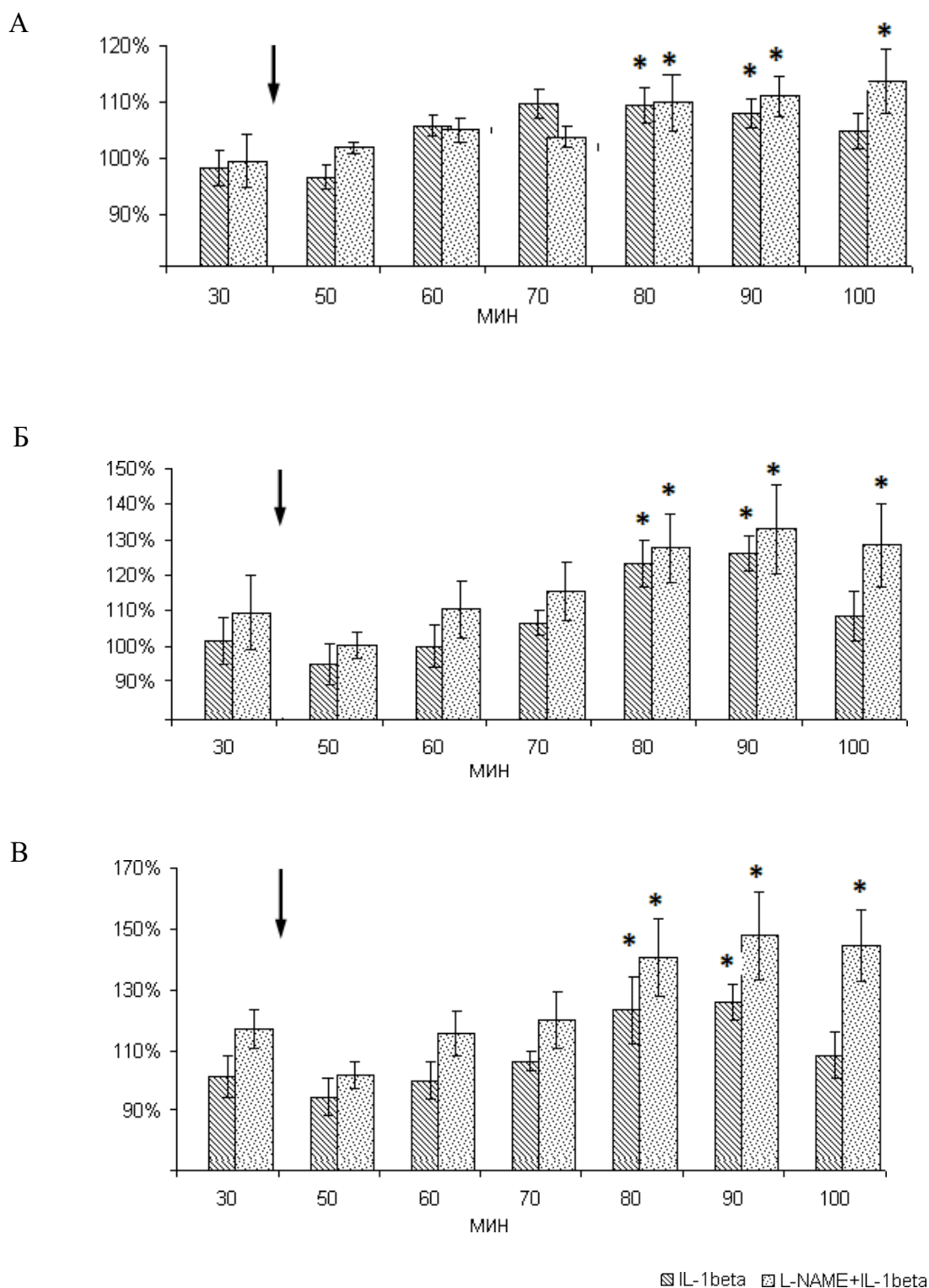


Рис. 6.3 Влияние L-NAME на изменения объёмно-временных параметров дыхания вызванные ИЛ-1 $\beta$ .

А – изменение частоты дыхательных движений, Б – изменение дыхательного объёма, В – изменение вентиляции. По оси абсцисс – время от начала эксперимента, показатели нормированы относительно их величины на 40-й минуте регистрации, непосредственно перед введением ИЛ-1 $\beta$ . Стрелкой указан момент введения.

\* - величины, достоверно отличающиеся от фоновых и контрольных значений.

### 6.3. Реакция на конечно-эспираторную окклюзию при повышении системного уровня ИЛ-1 $\beta$ на фоне действия L-NAME.

При внутривенном введении ИЛ-1 $\beta$  после предварительно введенного L-NAME было установлено, что ИЛ-1 $\beta$  не оказывает своего влияния на силу инспираторно-тормозящего рефлекса в условиях ингибирования NO-синтазной активности. В течение всего эксперимента, сила инспираторно-тормозящего рефлекса не отличалась от фоновых значений и была достоверно меньше чем в экспериментах с введением только ИЛ-1 $\beta$ . Таким образом, было установлено, что L-NAME устраняет потенцирующий эффект ИЛ-1 $\beta$  на инспираторно-тормозящий рефлекс Геринга-Брейера.

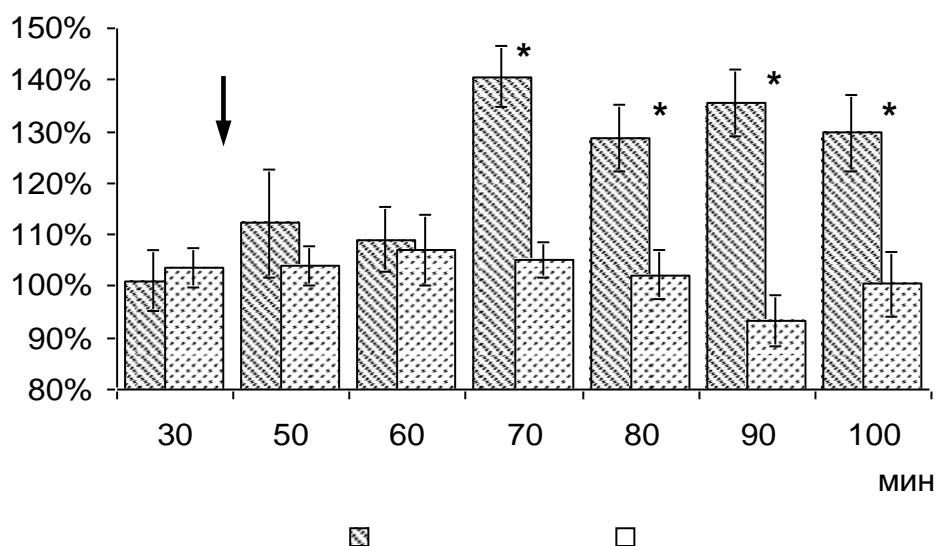


Рис. 6.4. Влияние L-NAME на изменения силы ИТР вызванные ИЛ-1 $\beta$ . Показатель силы ИТР нормирован относительно его величины на 40-й минуте регистрации.

Стрелкой указан момент введения ИЛ-1 $\beta$ . \* - величины, достоверно отличающиеся от фоновых значений, а также от величин, полученных в экспериментах с введением ИЛ-1 $\beta$  на фоне действия L-NAME.

#### 6.4. Обсуждение.

Основной целью данной работы является изучение механизмов, посредством которых циркулирующие провоспалительные цитокины, и в частности ИЛ-1 $\beta$  могут оказывать влияние на центральные механизмы регуляции дыхания, учитывая то, что они являются крупной полипептидной молекулой, не проникающей через гематоэнцефалический барьер. Как известно, гематоэнцефалический барьер состоит из нефенестрированных эндотелиальных клеток, связанных соединительными комплексами, формирующими непрерывный клеточный слой, обладающий свойствами плазматической мембраны. Цитокины представляют собой достаточно крупные гидрофильные полипептиды, которые не могут с легкостью преодолевать гематоэнцефалический барьер посредством механизма диффузии. Предполагается, что возможным механизмом, посредством которого периферические цитокины могут влиять на функцию мозга является индукция посредников, которые экспрессируются при взаимодействии цитокинов с соответствующими рецепторами сосудистого эндотелия (Graff, Gozal, 1999; Herlenius, 2011). В данной главе исследовалось возможное участие оксида азота в этих процессах.

Известно, что эндотелиальные клетки кровеносных сосудов имеют большое количество рецепторов ИЛ-1, при этом взаимодействие ИЛ-1 $\beta$  с данным рецептором активирует экспрессию эндотелиоцитами индуцибельной NO-синтазы и, как следствие, усиливает синтез оксида азота (Wong, 1995). Эндотелий кровеносных сосудов является одним из основных источников NO в центральной нервной системе. Действуя как межклеточный посредник, NO быстро проходит через гематоэнцефалический барьер и достигает клеточных мишеней. При этом благодаря высокой проникающей способности, NO влияет на внутриклеточные процессы, не взаимодействуя с мембранными рецепторами, поскольку он способен легко диффундировать через клеточную мембрану (Brennan, Bredt, 1996; Ситдикова и др. 2014). Результаты нашего исследования показали, что респираторные эффекты Интерлейкин-1бета зарегистрированные при экзогенном увеличении уровня Интерлейкин-1бета в циркуляторном русле, были вызваны усилением синтеза оксида азота клетками эндотелия. В этом

случае внутривенное введение L-NAME, блокатора NO-синтазной активности, должно было бы снизить или полностью исключить респираторные эффекты ИЛ-1 $\beta$ .

Как известно, формирование паттерна дыхания является сложным процессом, который определяется, прежде всего, внутрицентральными взаимодействиями между нейронами бульбарного дыхательного центра. Кроме того, в регуляции паттерна дыхания участвует также вагальная объемно-зависимая обратная связь, определяющая зависимость продолжительности дыхательных фаз от объема легких и реализующаяся посредством рефлексов Геринга-Брейера. В наших экспериментах введение L-NAME ингибировало влияние ИЛ-1 $\beta$  только на рефлекс Геринга-Брейера, тогда как его действие на паттерн дыхания не изменялось: при повышении системного уровня ИЛ-1 $\beta$  по-прежнему наблюдалось увеличение частоты дыхания, дыхательного объема и вентиляции легких. Это свидетельствует о том, что влияния провоспалительных цитокинов на внутрицентральные механизмы регуляции паттерна дыхания, которые определяются работой ритм-генерирующих нейронов и афферентными влияниями от центральных и периферических хеморецепторов, не идентичны влияниям на вагальные механизмы регуляции, реализующиеся посредством объемно-зависимой обратной связи. По всей вероятности, модуляция паттерна дыхания при увеличении содержания ИЛ-1 $\beta$  в кровеносном русле осуществляется в большей степени за счет активации цитохромных путей, тогда как в модуляции силы рефлекса Геринга-Брейера кроме цитохромных участвуют и NO-ергические механизмы.

Как известно, первичными афферентными нейронами в рефлекторной дуге рефлекса Геринга-Брейера являются сенсорные нейроны, образующие медленно адаптирующиеся рецепторы дыхательных путей. Афферентные волокна проходят в составе блуждающего нерва и достигают ядра одиночного тракта. Здесь они образуют возбуждающие глутаматергические синапсы на нейронах второго порядка, к которым относятся бета-инспираторные нейроны (I $\beta$ -нейроны) и ритм-нейроны (Bonham, 1993; Kubin et.al., 2006). Полученные нами данные позволяют предполагать, что в процесс модуляции силы инспираторно-тормозящего рефлекса, вызванный усилением синтеза оксида азота

провоспалительными цитокинами включены, скорее всего, рmp-клетки, которые в отличие от I $\beta$ -нейронов не активируются центральным инспираторным драйвом. Участие в этом процессе I $\beta$ -нейронов менее вероятно, так как они участвуют не только в реализации рефлекса Геринга-Брейера, но и в процессах внутрицентральных механизмов регуляции паттерна дыхания, модуляция которых не наблюдалась при действии L-NAME.

Важно также отметить, что NO-синтазные пути включаются в модуляцию дыхательных рефлексов только при повышенном системном уровне ИЛ-1 $\beta$ , т.е. в условиях характерных для развития острой фазы системного воспаления. В обычных условиях внутривенное введение L-NAME не вызывает достоверных изменений в объемно-временных параметрах дыхания и силе инспираторно-тормозящего рефлекса. Таким образом, результаты проведенного исследования указывают на участие NO-ергических механизмов в путях проведения влияния воспаления на рефлекторный контроль дыхания.

\*\*\*

Результаты проведенного исследования позволяют сделать следующие выводы:

1. Одним из механизмов усиления инспираторно-тормозящего рефлекса Геринга-Брейера при увеличении циркуляторного уровня ИЛ-1 $\beta$  является увеличение синтеза оксида азота.
2. NO-ергические механизмы вовлечены в модуляцию влияний ИЛ-1 $\beta$  на объемно-зависимую обратную связь, но не участвуют во внутрицентральных механизмах регуляции паттерна дыхания.
3. NO-ергические механизмы включаются в модуляцию дыхательных рефлексов только при повышенном системном уровне ИЛ-1 $\beta$ , т.е. в условиях характерных для развития острой фазы системного воспаления, так как в обычных условиях внутривенное введение L-NAME не вызывает достоверных изменений в объемно-временных параметрах дыхания и силе инспираторно-тормозящего рефлекса.

## **ГЛАВА 7. УЧАСТИЕ ГЛУТАМАТЕРГИЧЕСКОЙ ПЕРЕДАЧИ В МОДУЛИРУЮЩИХ ВЛИЯНИЯХ ИЛ-1 $\beta$ НА ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПАРАМЕТРЫ СИСТЕМЫ ВНЕШНЕГО ДЫХАНИЯ**

При изучении взаимодействия цитокинов с медиаторными системами было установлено, что провоспалительные цитокины ИЛ-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$  (фактор некроза опухоли) способны модулировать активность возбуждающих глутаматергических механизмов в центральной нервной системе. Роль NO как нейромедиатора, вторичного мессенджера и регулятора нервной деятельности также во многом связана с функциональным состоянием N-метил-D-аспартатных (NMDA) рецепторов, опосредующих действие возбуждающей аминокислоты L-глутамата. Предполагается, что образование NO является одним из внутриклеточных звеньев передачи глутаматергического сигнала. С другой стороны, установлено, что афферентные волокна медленно адаптирующихся рецепторов дыхательных путей образуют глутаматергические синапсы на нейронах, входящих в состав дуги рефлексов Геринга-Брейера (Еськов, 1994; Ефимов, 1987). Соотнесение этих данных с результатами нашего исследования позволяет предполагать, что одним из механизмов респираторных эффектов ИЛ-1 $\beta$ , обнаруженных нами при увеличении его циркуляторного уровня, является модуляция глутаматергической передачи, вызванная увеличением синтеза оксида азота клетками цереброваскулярного эндотелия.

Для проверки этого предположения была проведена серия экспериментов с внутривенным введением дизоцилпина, также известного как препарат МК-801, который является неконкурентным антагонистом N-метил-D-аспартатных глутаматных рецепторов. В ходе данной серии экспериментов было задействовано 8 крыс.

### **7.1 Влияние дизоцилпина (МК-801) на параметры внешнего дыхания.**

Первой задачей данного исследования было получение собственных экспериментальных данных относительно влияния антагониста глутаматных рецепторов NMDA-типа МК-801 на параметры внешнего дыхания анестезированной крысы. Проведенная серия экспериментов показала, что внутривенное введение 0,1 мкг МК-801, растворенного в 1 мл физиологического раствора, вызывает изменение объемно-временных параметров внешнего

дыхания (Табл. 7.1). Через 1 минуту после введения препарата наблюдалось достоверное уменьшение ДО и ЧД соответственно на 17% и 16% по сравнению с фоновой величиной, что приводило к снижению МОД на 31%.

Таблица 7.1.

Влияние МК-801 на функциональные параметры дыхательной системы.

Параметр	Физиологический раствор		МК-801	
	Фон	Через 1 мин после введения	Фон	Через 1 мин после введения
ДО, мл	1,9±0,2	1,9±0,3	1,7±0,4	1,4±0,4*
ЧД, ц/мин	128±20	130±22	136±22	114±10*
МОД, мл/ мин	242±42	234±37	223±58	153±29*

\* - достоверные изменения параметра по сравнению с фоном.

Таким образом, данная серия экспериментов показала, что МК-801 в использованной нами дозировке вызывает характерные изменения в состоянии респираторной системы анестезированной крысы, которые проявляются в снижении вентиляции легких вследствие уменьшения дыхательного объема и частоты дыхания.

## 7.2 Влияние МК-801 на параметры внешнего дыхания в условиях повышенного системного уровня ИЛ-1 $\beta$ .

Для того, чтобы выяснить действительно ли в нашей экспериментальной модели повышение системного уровня ИЛ-1 $\beta$  могло оказывать влияние на глутаматные рецепторы НМДА-типа, вовлеченные в регуляцию респираторной функции, было исследовано влияние МК-801 на параметры внешнего дыхания на фоне предварительного внутривенного введения ИЛ-1 $\beta$  в той же дозе, в которой он использовался в предыдущих сериях экспериментов.

Для этого в данной серии экспериментов производилось введение 0,1 мл МК-801 до и через каждые 30 минут после введения ИЛ-1 $\beta$ . Такая схема эксперимента была обусловлена тем, что дискретное введение МК-891 оказывает быстрое кратковременное действие на параметры внешнего дыхания, тогда как эффект ИЛ-1 $\beta$  развивается медленно, приблизительно в течение часа.

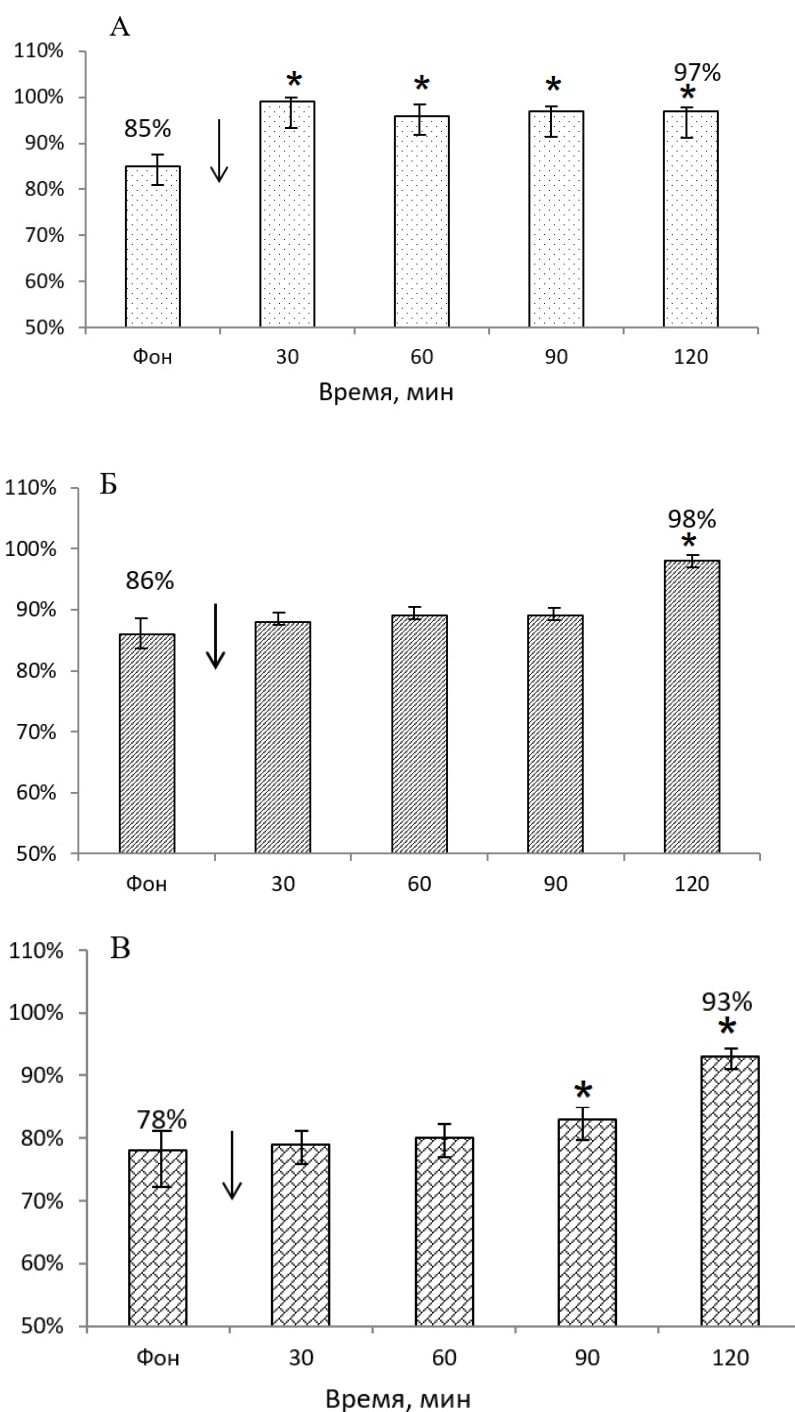


Рисунок. 7.1. Респираторные эффекты МК-801 до (фон) и после введения ИЛ-1 $\beta$ . А – изменение частоты дыхательных движений, Б – изменение дыхательного объёма, В – изменение вентиляции.

По оси абсцисс – время действия ИЛ-1 $\beta$ . Стрелкой указан момент введения ИЛ-1 $\beta$ . По оси ординат – величина параметра после введения МК-801. За 100% принята величина параметра непосредственно перед введением МК-801. \* -  $p < 0,05$

В процессе обработки полученных результатов определялась величина регистрируемого параметра непосредственно перед введением МК-801 и через 1 минуту после его введения. Также как и в предыдущей серии экспериментов,



величина параметра после введения МК-801 выражалась в процентах к величине того же параметра непосредственно перед введением МК-801.

Эксперименты показали, что на фоне действия ИЛ-1 $\beta$  влияние МК-801 на параметры внешнего дыхания либо значительно ослабевало, либо полностью исчезало (рис. 7.1). Полученный результат указывает на взаимодействие ИЛ-1 $\beta$  с глутаматергической нейромедиаторной системой, посредством модуляции активности глутаматных рецепторов NMDA-типа.

### 7.3. Обсуждение.

Результаты исследования, проведенного с помощью неконкурентного антагониста глутаматных рецепторов NMDA-типа МК-801, указывают на то, что блокирование глутаматных рецепторов изменяет функциональное состояние системы внешнего дыхания. Это проявляется в быстром кратковременном уменьшении дыхательного объема, снижении частоты дыхания и минутной вентиляции легких. Обнаруженные эффекты постепенно ослабевают и исчезают в том случае, если введение МК-801 производится на фоне действия ИЛ-1 $\beta$ . По нашему мнению, эти факты свидетельствуют о том, что ИЛ-1 $\beta$  может оказывать влияние на состояние глутаматных рецепторов NMDA-типа. Вероятно, что те изменения в активности респираторной системы, которые мы наблюдали при повышении системного уровня ИЛ-1 $\beta$ , по крайней мере, отчасти объясняются влиянием этого цитокина на глутаматные рецепторы. Высокая плотность этих рецепторов отмечается в структурах продолговатого мозга, которые участвуют в управлении кардиореспираторной функцией. Их много, в частности, в ядре одиночного тракта, в которое входят первичные афференты от рецепторов кардиореспираторной системы. Глутаматергические нейроны включаются в рефлекторные дуги, контролирующие кардиореспираторную функцию, их находят в составе дыхательного и сосудодвигательного центров. Поэтому весьма вероятно, изменение состояния глутаматных рецепторов NMDA-типа под влиянием ИЛ-1 $\beta$  является одной из причин кардиореспираторных дисфункций, наблюдающихся при системной воспалительной реакции.

\*\*\*

Таким образом, полученные результаты позволяют сделать вывод, что одним из механизмов влияния ИЛ-1 $\beta$  на паттерн дыхания и инспираторно-тормозящий рефлекс Геринга-Брейера является усиление глутамат-ергической передачи, вызванное увеличением синтеза оксида азота клетками цереброваскулярного эндотелия.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Итак, результаты проведенного исследования указывают на то, что резкое повышение содержания основного провоспалительного цитокина ИЛ-1 $\beta$  в плазме крови или в цереброспинальной жидкости, которое наблюдается при развитии системной воспалительной реакции, влияет на центральные механизмы регуляции паттерна дыхания и дыхательные рефлексy. Установлено, что ИЛ-1 $\beta$  способен увеличивать вентиляцию легких, действуя на обе составляющие минутного объема дыхания – как на дыхательный объем, так и на частоту дыхания. И хотя все нейронные пулы дыхательного центра взаимосвязаны и участвуют в автоматической регуляции дыхания, анализ полученных данных позволяет предполагать, что первая фаза ответа на ИЛ-1 $\beta$  реализовывается в большей степени через нейроны дорсальной респираторной группы (ДРГ), которые участвуют в формировании центральной инспираторной активности и в регуляции глубины дыхания, но практически не принимают участия в регуляции частоты дыхания (Bianchi et.al., 1995; Инюшкин, 2001). Это предположение основано на том, что в наших экспериментах в первой фазе ответа увеличение МОД достигалось за счет роста ЦИА и ДО, при этом достоверного изменения частоты дыхания не наблюдалось. Во второй фазе ответа, вероятно, в полной мере были задействованы и нейроны вентральной респираторной группы (ВРГ) связанные с регуляцией частоты дыхания, так как в этой фазе ответа наблюдалось увеличение частоты дыхательных движений, способствующее стабилизации МОД на повышенном уровне.

В регуляции паттерна дыхания важное участие принимает механорецепторный контур, который обеспечивает реализацию объемно-зависимой обратной связи в системе дыхания, обеспечивающей зависимость между глубиной и частотой дыхания. Наши эксперименты показали, что ИЛ-1 $\beta$  оказывает модулирующее влияние на механорецепторный контур регуляции.

Резкое увеличение системного уровня ИЛ-1 $\beta$  вызывает усиление рефлексов Геринга-Брейера, опосредующих объемно-зависимую обратную связь и участвующих в механизме смены дыхательных фаз. Увеличение частоты дыхания при действии ИЛ-1 $\beta$ , по всей вероятности, является следствием обнаруженного нами усиления инспираторно-тормозящего рефлекса, реализация которого при активации медленно адаптирующихся рецепторов растяжения вызывает торможение вдоха и досрочную смену дыхательных фаз. Результаты исследования указывают также на влияние ИЛ-1 $\beta$  на экспираторно-облегчающий рефлекс, который проявляется в том, что при увеличении объема легких сверх ФОЕ импульсы рецепторов растяжения легких увеличивают длительность выдоха, так называемое «вагусное апноэ». Экспираторно-облегчающий рефлекс - это не только лабораторный феномен. Он проявляется и в реальных условиях, например, во время аппаратного дыхания, при искусственной вентиляции легких. В соответствии с результатами наших экспериментов, вагусное апноэ будет значительно удлиняться в условиях гиперцитокинемии. Этот механизм может явиться неблагоприятным фактором при апноэ младенцев, которые учащаются и удлиняются у детей с воспалительными заболеваниями.

Результаты проведенного исследования указывают на то, что обнаруженные нами респираторные эффекты ИЛ-1 $\beta$  связаны с его влиянием на центральные механизмы регуляции дыхания, так как системное введение Интерлейкин-1бета оказывало такое же влияние на паттерн дыхания и дыхательные рефлексy, как и церебральное введение. Кроме того, к настоящему времени показано, что повышение системного уровня Интерлейкин-1бета вызывает активацию нейронов в респираторно зависимых районах мозгового ствола. Системное введение ИЛ-1 $\beta$  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 (Ericsson et.al., 1994, 1995). Это подтверждает нашу точку зрения, что даже при системном, внутривенном, введении ИЛ-1 $\beta$  влияет на центральные механизмы регуляции дыхания.

При церебральном введении, в боковые желудочки мозга, ИЛ-1 $\beta$  достигает с током ликвора дна четвертого желудочка и, в принципе, может оказывать прямое влияние на нейроны дыхательного центра, участвующие в центральном механизме обеспечивающим работу дыхательных рефлексов. Вместе с тем показано, что прямое действие ИЛ-1 $\beta$  на респираторные нейроны мозгового ствола *in vitro* не изменяет их активность (Olsson et.al., 2003). Более того, анализ распределения мРНК, кодирующей белок рецептора ИЛ-1 первого типа (IL-1R1), не обнаруживает мРНК IL-1R1 среди тех нейронов, которые отвечают на внутривенное введение Интерлейкин-1бета индукцией транскрипционного фактора fos (Ericsson et.al., 1995). Следовательно, нейроны, отвечающие на цитокиновый сигнал, не имеют соответствующих рецепторов. Эти факты позволяют предполагать, что ИЛ-1 $\beta$  действует на центральные механизмы регуляции дыхания не прямо, а опосредовано, через систему вторичных месенджеров, роль которых выполняют простагландины и оксид азота. Полученные нами результаты при проведении ингибиторного анализа подтверждают это предположение и показывают, что в качестве таких посредников выступают оксид азота (NO) и простагландины (PG). Они в большом количестве экспрессируются периваскулярными клетками и клетками церебрального эндотелия при активации имеющихся здесь цитокиновых рецепторов (Wong et.al., 1995; Nadeau, Rivest, 1999). Являясь небольшими растворимыми молекулами, PG и NO легко проникают через плазмолемму и гематоэнцефалический барьер, в результате чего цитокины могут влиять на функцию даже тех нейронов, которые не имеют цитокиновых рецепторов.

Согласно традиционной точке зрения функциональные взаимодействия между органами и системами органов, регуляция их активности и формирование адаптивных реакций на изменение условий внешней и внутренней среды обеспечиваются нервными и гормональными механизмами. Роль иммунных механизмов в системной регуляции физиологических функций начали рассматривать лишь в последние десятилетия XX века, когда стало известно, что иммунная система может взаимодействовать с нервной системой посредством цитокинов – пептидных молекул, экспрессируемых иммунными клетками. В настоящее время предполагается, что цитокины могут представлять собой

особую систему регуляции физиологических функций, действующую наряду с нервной и гормональной системами. Однако возможное участие цитокинов в механизмах регуляции висцеральных функций организма, и в частности, системы дыхания, пока практически не изучено. Полученные нами прямые экспериментальные данные, доказывающие участие провоспалительных цитокинов – медиаторов иммунной системы в рефлекторных механизмах регуляции дыхания являются приоритетными и способствуют разработке нового направления исследований в области физиологии дыхания – изучению нейроиммунных механизмов регуляции респираторной функции.

## ВЫВОДЫ

1. Повышение уровня провоспалительного цитокина ИЛ-1 $\beta$  в плазме крови или в цереброспинальной жидкости, оказывает влияние на объемно-временные параметры дыхания, вызывая увеличение частоты дыхания, дыхательного объема и минутного объема дыхания.
2. Одновременно с изменением объемно-временных параметров дыхания наблюдается увеличение центральной инспираторной активности, а также электрической активности диафрагмы, что свидетельствует о влиянии ИЛ-1 $\beta$  на центральные механизмы регуляции дыхания.
3. ИЛ-1 $\beta$  участвует в механорецепторном контроле дыхания посредством усиления инспираторно-тормозящего и экспираторно-облегчающего рефлексов Геринга-Брейера.
4. Влияние ИЛ-1 $\beta$  на рефлекс Геринга-Брейера не проявляется на фоне ингибирования циклооксигеназной или NO-синтазной активности, свидетельствуя о том, что в основе модулирующих влияний провоспалительных цитокинов на рефлекторный контроль дыхания лежит усиление синтеза простагландинов и оксида азота.
5. В отличие от циклооксигеназных путей NO-синтазные пути не участвуют во внутрицентральных механизмах регуляции паттерна дыхания, вовлекаясь в модуляцию влияний ИЛ-1 $\beta$  только на рефлекс Геринга-Брейера.
6. Одним из медиаторных механизмов опосредующих влияния ИЛ-1 $\beta$  на механорефлекторный контур регуляции дыхания является усиление глутаматергической передачи в дуге рефлекса Геринга-Брейера.

**СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ЛИТЕРАТУРНЫХ ИСТОЧНИКОВ**

1. Александров В.Г. Влияние повышенного церебрального уровня глутамата на состояние респираторной системы анестезированной крысы. / В.Г. Александров, Тхи Хьонг Буй, Н.П. Александрова // Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. -2012. - 98(7). С. 845-853.
2. Александрова Н.П. Изменение объемновременных параметров внешнего дыхания при экзогенном повышении церебрального уровня интерлейкина $1\beta$  / Н.П. Александрова, В.А. Меркурьев, Г.А. Данилова // Вестник ТГУ. Серия: Биология и экология. -2009.- Вып. 16. № 37.- С. 7.
3. Александрова Н.П. Влияние гамма-аминомасляной кислоты на инспираторно-тормозящий рефлекс Геринга-Брейера. / Н.П. Александрова, В.Г. Александров, Т.Г. Иванова. // Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. – 2008. - 94(12). – С. 1356 - 1364.
4. Александрова Н.П. Влияние интерлейкина-1 на паттерн дыхания и инспираторно-тормозящий рефлекс Геринга-Брейера. / Н.П. Александрова, В.А. Меркурьев, В.Г.Александров // Вестник Тверского государственного университета. Серия: Биология и экология. – 2013. - 2. - С. 9 –17.
5. Александрова Н.П. Цитокины и резистивное дыхание. // Физиология человека. – 2012. - 38 (2). – С. 119 – 129.
6. Бреслав И.С. Паттерны дыхания /И.С. Бреслав // Л. Наука. – 1984. – С. 208.
7. Бреслав И.С. Центральная и периферическая хеморецепция системы дыхания / И.С Бреслав, В.Ф.Пятин //Физиология дыхания. СПб - 1994. - С. 416-472.
8. Бреслав И. С. Регуляция дыхания / И. С. Бреслав, Глебовский В. Д. // Ленинград. – 1981. – С. 280.
9. Бреслав И.С. Состояние и перспективы изучения механизмов регуляции дыхания / И.С. Бреслав, Г.Г. Исаев // Физиол. журн. СССР. - 1985. - Т. 71. №3. - С. 283-292.
10. Бреслав И.С. Дыхание: висцеральный и поведенческий аспекты/ И.С. Бреслав, А.Д. Ноздрачев // СПб. –2005. – С. 287.

11. Глебовский В. Д. О рецепторах растяжения диафрагмы / В. Д. Глебовский // Физиол. журн. СССР. 48 (5) – 1962.- С. 545-553.
12. Глебовский В.Д. Рефлексы с рецепторов лёгких и дыхательных мышц и их значение в регуляции дыхания / В.Д. Глебовский // Физиология дыхания. Л. – 1973. – С. 115–150.
13. Глебовский В.Д. О зависимости между дыхательным объемом и длительностью вдоха у децеребрированных кошек / В.Д. Глебовский, Н.С. Гизатуллина // Физиол. ж. СССР. 1976. - Т.63. №4. - С.524-531.
14. Глебовский В.Д. О значении рефлекса на спадение легких в регуляции частоты дыхания у кошек / В.Д. Глебовский, В.А. Жданов // Физиол. журн. СССР. – 1974. - Т. 60, №11. - С. 1692-1702.
15. Данилова Г.А. Роль провоспалительного цитокина Интерлейкина -1бета в хеморецепторных механизмах регуляции дыхания: дисс. кан-та биол. наук. – С-Пб, 2014, С. 147.
16. Еськов В.М. Введение в компартментную теорию респираторных нейронных сетей / В.М. Еськов /- М. - 1994. – С. 166.
17. Ефимов В.Н. Что обозначает термин “дыхательный центр” / В.Н. Ефимов, В.А. Сафонов // Современ. пробл. физиол. дыхания. Куйбышев. -1987. – С. 5-13.
18. Жданов В.А. Влияние динамического фактора на частоту разрядов высокопороговых рецепторов растяжения легких у кошки / В.А. Жданов // Физиол. журн. СССР им. И.М. Сеченова. - 1978. - Т. 64, №6. - С. 810-817.
19. Жданов В.А. Анализ зависимости частоты разрядов рецепторов растяжения лёгких кошки от лёгочного объёма. Физиол. журн. СССР. – 1976. - №11.-С. 1645- 1651.
20. Инюшкин А. Н. Влияние тиролиберина на мембранный потенциал и спонтанную активность и калиевый А-ток нейронов ядра солитарного тракта / А. Н. Инюшкин // Современные проблемы физиологии вегетативных функций. – Самара, 2001. – С. 17–31.
21. Исаев Г.Г. Регуляция дыхания при мышечной работе / Г.Г. Исаев // Физиология дыхания. – 1994. – С. 537-577.



22. Кедер-Степанова И.А. Нейронная организация дыхательного центра продолговатого мозга: автореферат дисс.д-ра. биол. наук. -М.,1981.-С. 32
23. Кетлинский С.А. Интерлейкины 1 и 2 как медиаторы адьювантной активности пептидогликанов из *Lactobacillus bulgaricus* / С.А. Кетлинский, А.А.Прокопьев, Е.Д. Прокопьева и др // Научные основы технологии промышленного производства ветеринарных биологических препаратов: Тез. докл. Третьей Всесоюз. конф.-Москва, 21-23 окт.- М. - 1987. –С. 347.
24. Кетлинский С.А. Эндогенные имму- номодуляторы. / С.А. Кетлинский, А.С. Симбирцев, А.А Воробьев. - СПб.: Гиппократ. - 1992. – С. 256.
25. Косицкий Г.И. «Физиология человека» / Косицкий Г.И. - Издательство «Медицина»- М. - 1985. – С. 560.
26. Котов А.Ю. Интерлейкин -1 подобный фактор из В-лимфоцитов человека, трансформированных вирусом Эпштейна – Барра / А.Ю. Котов, А.С. Симбирцев, Н.Д. Перумов, С.А Кетлинский. // Цитология. – 1989. – Т. 31, №2 – С. 226-233.
27. Лашков В.Ф. Иннервация органов дыхания. М.: Медгиз. - 1963. – С. 21.
28. Левин С.Г. Модулирующее действие цитокинов на механизмы синаптической пластичности в мозге. / С.Г.Левин,О.В. Годухин // Биохимия. – 2017. - том 82.- вып. . - С. 397 – 409.
29. Менакер С. Гуморальная и нервная регуляция дыхания / С. Менакер В кн.: М.А Гриппи // Патофизиология легких. – Изд. 2-е, исправ. - М.: Издательство Бином, 2008. - С. 220-231
30. Меркулова Н.А. Дыхательный центр и регуляция его деятельности супрабульбарными структурами: монография. / Н.А. Меркулова, А.Н. Инюшкин, В.И. Беляков, Р.А. Зайнулин [и др.]. Самара: Изд-во «Самарский университет- 2007. – С. 170.
31. Миславский Н.А. О дыхательном центре // Избранные произведения. - М. - 1952. - С. 21-94.
32. Мюльберг А.А. Цитокины как медиаторы нейроиммунных взаимодействий / А.А. Мюльберг, Е.В. Гришина // Успехи физиол. наук. - 2006. - Т. 37. № 1. - С. 18.

33. Ноздрачев А.Д. Общий курс физиологии человека и животных. В 2-х кн. / А.Д.Ноздрачев, Ю.И. Баженов, И.А. Баранникова // . - М.: Высшая школа, 1991 – С. 509.
34. Песков Б.Я. Структурно-функциональные механизмы бульбарной хемочувствительности и дыхания / Б.Я. Песков, В.Ф. Пятин // Физиол. Журн. СССР - 1988. - Т. 34. - С. 104-112.
35. Покровский В.М. Физиология человека // В.М. Покровский, Г.М. Коротько. - М.: Медицина – 1997 - Т.1. 448 стр.
36. Попова Л.М. Нарушения дыхания// Руководство по клинической физиологии дыхания - Л., 1980 - С. 316-336.
37. Прудников А.Р. Роль цитокинов в диагностике нестабильности атеросклеротической бляшки. / А.Р.Прудников, А.Н.Щупакова // Вестник ВГМУ. – 2018. – Том 17, №5. – С. 28-42.
38. Сафонов В. А. Нейрофизиология дыхания / В. А. Сафонов, В. Н. Ефимов, А. А. Чумаченко М.:Медицина, 1980. – 224 с.
39. 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 – С 192.
40. Симбирцев А.С. Биология семейства интерлейкина 1 человека // Иммунология. 1998. – №3. С. 9-17.
41. Симбирцев А.С. Цитокины в лабораторной диагностике. / Симбирцев А.С., Тотолян А.А. // Инфекционные болезни: новости, мнение, обучение. – 2015. - №2. – С. 82-98.
42. Ситдикова Г. Ф. Газомедиаторы: от токсических эффектов к регуляции клеточных функций и использованию в клинике. / Ф.Г. Ситдикова, А. В. Яковлев, А. Л. Зефирова // Бюллетень сибирской медицины. – 2014. -13 (6). – С. 185 – 200.
43. Степаничев М.Ю. Цитокины как нейромодуляторы в центральной нервной системе // Нейрохимия - 2005 - Т. 22. № 1- С. 5.
44. Тараканов И.А. ГАМКергические механизмы нарушения дыхательного ритма / И.А. Тараканов, В.А. Сафонова // Патол. физиология и эксперим. Терапия - 1998а - №2 - С. 48.

45. Тараканов И.А. ГАМКергическая система и ее значение для регуляции дыхания / И.А. Тараканов, В.А. Сафонова // Физиология человека – 1998 б- Т. 24, №5 - С. 116.
46. Дж. Уэст. Физиология Дыхания. Основы. М.: Мир – 1988- С. 202.
47. Федин А. Н. Физиология респираторной системы / А. Н. Федин, А. Д. Ноздрачев., И. С. Бреслав - С.-Петербург, 1997. – С. 187.
48. Фельбербаум Р. А. О рефлексах с верхних дыхательных путей. В кн.: Физиология дыхания. Руководство по физиологии - Л. –1973.Т 3.– С. 151 – 164.
49. Физиология человека. В 3-х томах. / Под. Ред. Р. Шмидта, Г. Тевса – Изд. 3-е. – М.: Мир, 2005. – Т.1 – С. 323.; Т.2 – С.314.; Т.3 – С.228.
50. Филиппова Л.В. Интероцепция и нейроиммунные взаимодействия = Interoception and neuro-immune interactions / Л.В. Филиппова, А.Д. Ноздрачева // Российская акад. Наук., Ин-т физиологии им. И.П. Павлова – Санкт-Петербург Наука – 2007. – С. 294.
51. Франкштейн С.И. Дыхательные рефлексy и механизмы одышки - М., 1974. – С. 117.
52. Черниговский В.Н. Физиология дыхания (Руководство по физиологии) - Л., 1973 – С. 351.
53. Шимараева Т. Н. Реакции диафрагмальных ядер на деформации грудной клетки у кошки /Т. Н. Шимараева , В. Д. Глебовский // Физиол. журн. СССР- 1975 - 61 (12) – С. 1779-1788.
54. Ярилин А.А. Основы иммунологии - М.: Медицина, 1999 –С. 608.
55. Ярилин А.А. Иммунология: учебник – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010 – С. 752.
56. Aarden L.A. Revised nomenclature for antigen-nonspecific T-cell proliferation and helper factors / L.A. Aarden, T.K. Brunner, J.C. Cerottini [et al.] //J. Immunol. – 1979 – Vol. 123, №5. – P. 2928-2929.
57. Abdala A.P.L., Machado B.H., St-John W.M., Paton J.F.R. Multiple pontomedullary mechanism of respiratory rhythmogenesis / A.P.L. Abdala, I.A. Rybak, J.C. Smith, D.B. Zoccal, B.H. Machado, W.M. St-John, J.F.R.Paton // Respir Physiol Neurobiol. - 2009. – Vol.168. – No2. – P. 19-25.

58. Acres R.B. Productions of IL-1 $\alpha$  and IL-1 $\beta$  by clones of EBV transformed, human B-cells / R.B. Acres, A. Larsen, S. Gillis, P.J. Conlon // *Molec. Immunol.*- 1987. – Vol. 24 'H 5. – P. 479-485.
59. Adrian E.D.J. *Physiol.*- 1933.- 79.- P. 332-358.
60. Aleksandrov V.G. Cortical control of Hering-Breuer reflexes in anaesthetized rats. / V.G. Aleksandrov, V.A. Mercuriev, T.G. Ivanova, A.A. Tarasevich [et al.] // *Eur. J. Med. Res.* – 2009. - 14 (IV). P. 1-5.
61. Aleksandrova N.P. Effect of intracerebroventricular injection of interleukin-1beta on the ventilatory response to hyperoxic hypercapnia / N.P. Aleksandrova, G.A. Danilova // *Eur. J. Med. Res.* - 2010. - V. 15. Sup. II. - P. 3-6.
62. Aleksandrova N.P. Interleukin-1beta supresses the ventilatory hypoxic response in rats via prostaglandin-dependet pathways. / N.P. Aleksandrova, G.A. Danilova, V.G . Aleksandrov // *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology.* -2017. - Vol. 95. № 6. - P. 681-685.
63. Aleksandrova N.P. Cyclooxygenase pathway in modulation of the ventilatory response to hypercapnia by Interleukin - 1 $\beta$  in rats. / N.P. Aleksandrova, G.A. Danilova, V.G . Aleksandrov // *Respiratory Physiology & Neurobiology.* - 2015. - Vol. 209. - P. 85-90.
64. Alheid G.F. Caudal nuclei of the rat nucleus of the solitary tract differentially innervate respiratory compartments within the ventrolateral medulla. / G.F. Alheid, W. Jiao, D.R. McCrimmon // *Neuroscience* - 2011 Sep 8 – V. 190. – P. 207-227.
65. Alheid G.F. The chemical neuroanatomy of breathing. / F.G. Alheid, D.R. Mc Crimmon // *Pespir Physiol Neurobiol.*, Department of Physiology, Feinberg School of Medicine, Northwestern University, 303 E Chicago Avenue, Chicago, IL 60611-3008, USA. – 2008 Dec – 164(1-2). – P. 3-11.
66. Anisman H. Cytokines, stress and depressive illness. / H. Anisman, Z. Merali // *Brain. Behav. Immun.* - 2002. - V. 16, № 5. - P. 513.
67. Aoki M. Generation of spontaneous respiratory rhythm in high spinal cats / M. Aoki, S. Mory, N. Kawahara [et al.] // *Brain Res.* - 1980. - V. 202. - P. 51-63.

68. Aylwin M.L. NonNMDA and NMDA receptors in the synaptic pathway between area postrema and nucleus tractus solitarius / M.L. Aylwin, J.M. Horowitz, A.C. Bonham // *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* - 1998. - V. 275. - P. H1236.
69. Bakouche O. Subcellular localization of human monocyte interleukin – 1: evidence for an inactive precursor molecule and a possible mechanism for IL – 1 release / O. Bakouche, D.C. Brown, L.B. Lachmart // *J. Immunol.* – 1987. – Vol. 138, № 12. – P. 4249-4255.
70. Ballantyne D. The non-uniform character of expiratory bulbospinal neurones of the cat / D. Ballantyne, D.W. Richter // *J. Physiol.* - 1986. - V. 370. - P. 433-456.
71. Ballantyne D. Central chemosensitivity of respiration: a brief overview. / D. Ballantyne, P. Scheid // *Respir Physiol.* - 2001 – 129(1-2). – P. 5 - 12.
72. Banks W.A. Passage of cytokines across the bloodbrain barrier / W.A. Banks, A.J. Kastin, R.D. Broadwell // *Neuroimmunomodulation.* - 1995. - V. 2, № 4. - P. 241.
73. Bartoli A. The effect of varying tidal volume on the associated phrenic motoneurone output. / A. Bartoli, B. A. Gross, A. Gus [et. al.] // *Respir. Physiol.* 1975.- 25(2) – P. 135 155.
74. Bartlett, D.Jr. Transduction properties of tracheal stretch receptors. / D. Jr. Bartlett, G. Sant’Ambrogio, J.C.M. Wise. // *J. Physiol. I- London.* – 1976 b.- 258. – P.421-432.
75. Baumgarten R. The interaction of two types of respiratory neurons in the region of the tractus solitarius of the cat / R. Baumgarten, E. Kanzow // *Arch. Ital. Biol.* - 1958. - V. 96. - P. 361–373.
76. Berger A.J. Control of breathing // *Textbook of respiratory physiology.* - Philadelphia, 2000. - P. 179-197.
77. Ben-Mabrouk F. Metabotropic glutamate receptors (mGluR5) activate transient receptor potential canonical channels to improve the regularity of the respiratory rhythm generated by the pre-Botzinger complex in mice. / F. Ben-Mabrouk, L.B. Amos, A.K. Metabotropic // *Eur J Neurosci.* - 2012 – V. 35(11). – P. 1725 - 1737.

78. Beusker H.U. Macrophage membrane interleukin-1 regulated the expression of acute phase proteins in human hepatoma Hep 3B cells / H.U. Beusker, R.J. Fallon, H.R. Colten // *J. Immunol.* – 1987. – Vol. 139, №6. – P. 1896.
79. Bianchi A. L. Central control of breathing in mammals: neuronal circuitry, membrane properties, and neurotransmitters / A. L. Bianchi, M. Denavit-Saubie, J. Champagnat // *Physiol. Rev.* – 1995. – Vol. 75, № 1. – P. 1–45.
80. Blain G.M. Peripheral chemoreceptors determine the respiratory sensitivity of central chemoreceptors to CO<sub>2</sub>. / G.M. Blain, C.A. Smith, K.S. Henderson, J.A. Dempsey // *J Physiol.* – 2010 - 588(Pt 13). – P. 2455 - 2471.
81. Bonham A.C. Plasticity in the nucleus tractus solitarius and its influence on lung and airway reflexes / A.C. Bonham, C.Y. Chen, S. Sekizawa, J.P. Joad // *J Appl Physiol.*-2006.-Vol. 101. -N1. -P. 322–327.
82. Bonham A.C. Pulmonary stretch receptor afferents activate excitatory amino acid receptors in the nucleus tractus solitarii in rats / A.C. Bonham, S.K. Coles, D.R. McCrimmon // *J. Physiol.* - 1993. - Vol. 464. - P. 725-745.
83. Bonham A.C. Neurones in a discrete region of the nucleus tractus solitarius are required for the Breuer-Hering reflex in rat / A.C. Bonham, D.R. McCrimmon // *J Physiol.* - 1990. - Vol. 427. - P. 261-280.
84. Bradley G. A model of the central and reflex inhibition of inspiration in the cat. / G.Bradley, C. Van Euler, I. Martilla, B. Ross / *Biological Cybernetics* – 1975. – 19.- P. 105 -116.
85. Brenman J. E.Nitric oxide signaling in the nervous system / J. E. Brenman, D. S. Bredt // *Methods in Enzymology.* – 1996. – 269. P. 119 - 129.
86. Brockhaus J. Microenvironment of respiratory neurons in the in vitro braistem-spinal cord of neonatal rats / J. Brockhaus, K. Ballanyi, J.C. Smith, D.W. Richter // *J. Physiol. (London)* - 1993. - Vol. 462. - P. 421-445.
87. Broun I. Neuroepithelial bodies: a morphologic substrate for the link between neuronal nitric oxide and sensitivity to airway hypoxia? / I. Broun, J.Van Genechten, D.W.Scheuermann, J.P.Timmermans // *J. Comp. Neurol.* - 2002. – Aug., 5. - 449(4). – P. 343-354.

88. Brown K. The Hering-Breuer reflex in anesthetized infants: end-inspiratory vs. end-expiratory occlusion technique. / K. Brown, J. Stocks, C. Aun, P. S. Rabbette. // *J. Appl. Physiol.* – 1998. - 84 (4). – P. 1437–1446.
89. Campbell E. J. M. The respiratory muscles. Mechanics and nerve control. / E. J. M. Campbell, E. Agostoni, D. J. Newson / Lloyd Luke- London, 1970.
90. Campbell E. J. M. Accessory muscles. In.: The respiratory muscles: Mechanics and nerve control. Philadelphia. - 1970. - P. 181 - 193.
91. Careaga M. Immune endophenotypes in children with Autism Spectrum Disorder. / Careaga M., Rogers S., Hansen R. L., David G. A. [et.al.] // *Biol Psychiatry.* - 2017. - Mar 1. V. 81 (5). – P. 434–441.
92. Carswell E. An endotoxin induced serum factor that causes necrosis of tumors / E. Carswell, L. Old, R. Kassel [et al.] // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* — 1975. — Vol. 72. — P. 3666–3670.
93. Chatila T.A. Requirement for mitogen, T-cells accessory cell contact and interleukin-1 in the inductions of resting T-cell proliferation / T.A. Chatila, D.H. Schwartz, R. Miller, R.S. Geha // *Clin. Immunol. Immunopathol.* – 1987 – Vol. 44, № 2. - P. 235-247.
94. Chao C.C. Interleukin-1 and tumor necrosis factor- $\alpha$  synergistically mediate neurotoxicity: involvement of nitric oxide and of N-methyl-D-aspartate receptors / C.C. Chao, S. Hu, L. Ehrlich, P.K. Peterson // *Brain Behav. Immunol.* - 1995. - Vol. 9. - P. 355 -361.
95. Chen C.Y. NonNMDA and NMDA receptors transmit area postrema input to aortic baroreceptor neurons in NTS / C.Y. Chen, A.C. Bonham // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* - 1998. - V. 275. - P. H1695.
96. Clarke F. J. On the regulation of depth and rate of breathing / F. J. Clarke, C. Euler, // *J. Physiol.* – 1972. –Vol. 222. – P. 267–295.
97. Cohen S. Similarities of T cell function in cell-mediated immunity and antibody production / S. Cohen, P. Bigazzi, T. Yoshida // *Cell. Immunol.* — 1974. — Vol. 12. — P. 150–159.
98. Covillon J.-M. The role of serum in interleukin-1 production by human monocytes activated by endotoxins and their polysaccharide moieties. / J.-M.

- Covillon, N. Haefliger- Covillon // *Immunol. Lett.* – 1985. – Vol. 10. – P. 35-41.
99. Cohen M.I. Vagal afferent inputs to dorsolateral rostral pontine inspiratory-modulated neurons / M.I. Cohen, C.F. Shaw // *Respir. Physiol. Neurobiol.* - 2004. - V. 143. - P. 127-140.
  100. 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.
  101. Churchill L. Brain distribution of cytokine mRNA induced by systemic administration of interleukin-1beta or tumor necrosis factor alpha. / L. Churchill, P. Taishi, M. Wang et al. // *Brain Res.* – 2006. - 1120 (1). – P. 64-69.
  102. Cohen M.I. Synaptic connections between medullary inspiratory neurons and phrenic motoneurons as revealed by cross-correlation / M.I. Cohen, M.F. Piercey, P.M. Gootman, P. Wolotsky // *Brain Res.* - 1974. - V. 81. - P. 319-324.
  103. Cohen, M.I. Neurogenesis of respiratory rhythm in the mammal. // *Physiol. Rev.* – 1979. - 59. - P. 1105-1173.
  104. Chu E. Role of Ia antigens and interleukin-1 in T-cells proliferation to phytohemagglutinin / E. Chu, H. Cesner, J. Gorga, R.S. Geha // *Clin. Immunol. Immunopathol.* – 1985. – Vol. 36, P. 70-80.
  105. Cohen M.I. Models of respiratory phase-switching. / M.I. Cohen, J.L. Feldman // *Feder. Proc.*- 1977 - Vol. 36 - P. 2367-2374.
  106. Davies, J. G. The detection of monosynaptic connections from inspiratory bulbospinal neurons to inspiratory motoneurons in the cat. / J. G. Davies, P. A. Kirkwood, T. A. Sears. // *J. Physiol. (Lond.)*. - 1985a. - 368 - P. 33- 62.
  107. Davies, J. G. The distribution of monosynaptic connections from inspiratory bulbospinal neurons to inspiratory motoneurons in the cat. / J. G. Davies, P. A. Kirkwood, T. A. Sears. // *J. Physiol. (Lond.)*. - 1985 b. – 368. - P. 63-81.
  108. Dantzer R. Neural and humoral pathways of communication from the immune system to the brain: parallel or convergent? / R. Dantzer, J.P. Konsman, R.M. Bluthé, K.W. Kelley // *Auton. Neurosci.* - 2000. - V. 85. - P. 60-66.



109. De Castro D. Electrophysiological studi of dorsal respiratory neurons in the medulla oblongata of the rat. / D. De Castro, J. Lipski, R. Kanjhan // *Brain. Res.* - 1994. - V. 639. - P. 49–56.
110. Del Negro C.A. Disparate purinergic modulation of respiration in rats and mice. / C.A. Del Negro // *J Physiol.* – 2011 – 589(Pt 18). – P. 4409-4410.
111. Del Negro C.A. Teruyama R., Feldman J.L. Synaptically activated burst-generating conductances may underlie a group-pacemaker mechanism for respiratory rhythm generation in mammals. / C.A. Del Negro, J.A. Hayes, R.W. Pace, B.R. Brush, R. Teruyama, J.L. Feldman // *Prog Brain Res.* – 2010 – V. 187 – P. 111 - 136.
112. Dick, T.E. Pontine respiratory neurons in anesthetized cats. / T.E. Dick, M.C. Bellingham, D.W. Richter. // *Brain Res.* – 1994. – 636. P. 259–269.
113. Dobbins E. Brainstem network controlling descending drive to phrenic motoneurons in rat. / E. Dobbins, J.L. Feldman // *J. Comp. Neurol.* - 1994. - V. 347. - P. 64–86.
114. Dower S.K. Detection and characterization of high affinity plasma membrane receptors for human interleukin-1. / S.K. Dower, S. R. Kronheim, C.J. March et al. // *J. exp. Med.*- 1985. – Vol. 162, №2. – P. 501-515.
115. Dubreuil V. Breathing with phox2b. / V. Dubreuil, J. Barhanin, C. Goridis, J.F. Brunet // *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* – 2009 - 364(1529) – P. 2477 - 2483.
116. Duffin, J. A commentary on eupnoea and gasping. // *Respir. Physiol. Neurobiol.* – 2003. – 139. - P. 105-111.
117. Durum S.K., Smith M.R. Intracellular activities of cytokines: microinjection of IFN-gamma, TNF, TGF-beta, IL1 and IL2 // *Lymphokine Res.* -1988. –Vol. 7, №3. – P. 262.
118. Ericsson A. A functional anatomical analysis of central pathways subserving the effects of interleukin1 on stressrelated neuroendocrine neurons / A.Ericsson, K.J. Kovacs, P.E. Sawchenko // *J. Neurosci.* - 1994. - V. 14. № 2. - P. 897-905.
119. Ericsson A. Type 1 interleukin1 receptor in the rat brain: distribution, regulation, and relationship to sites of IL1induced cellular activation / A. Ericsson, C. Liu,

- R. Hart, P.E. Sawchenko // *J. Comp. Neurol.* - 1995. - V. 361. № 4. - P. 681-698.
120. Euler, C. von. Brainstem mechanism for generation and control of breathing pattern; - In: Chernack, N.S, Widdicombe, J.G. (Eds.), *Handbook of Physiology, Section 3: The Respiratory System, Vol. II: Control of Breathing*, American Physiological Society, Washington, DC – 1986. -P. 1-67.
121. Euler C. Brain stem mechanisms for generation and control of breathing 138 pattern // *Handb. Physiol. Sect.3. The respirat. Syst.* Bethesda. - 1986. - №2. - P. 1-67.
122. 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.
123. Euler C. von. Respiratory neurons of the ventrolateral nucleus of the solitary tract of cat: vagal input, spinal connections and morphological identification / C. von. Euler, J.N. Hayward, I. Marttila [et al.] // *Brain. Res.* - 1973. - V. 61. - P. 1–22.
124. Fatkhullina A.R. The Role of Cytokines in the Development of Atherosclerosis. / A.R.Fatkhullina, I.O.Peshkova, E.K.Koltsova // *Biochemistry.* – 2016. – Vol. 81, No. 11. - PP. 1614-1627.
125. Fedorko L. Axonal projections from the rostral expiratory neurones of the Botzinger complex to medulla and spinal cord in the cat. / L. Fedorko, E.G. Merrill // *J. Physiol.* - 1984. V. 350. - P. 487-496.
126. Feldman J.L. Projections from the ventral respiratory group to phrenic and intercostal motoneurons in cat: an autoradiographic study. / J.L. Feldman, A.D. Loewy, D.F. Speck // *J. Neurosci.* - 1985. - V. 8. - P. 1993-2000.
127. Feldman J.L. Looking for inspiration: new perspectives on respiratory rhythm/ J.L. Feldman, C.A. Del Negro // *Nat Rev Neurosci.* – 2006 –V. 7(3). - P. 232-242.
128. Feldman, J.L. Neurophysiology of breathing in mammals; - In: Bloom, F.E. (Ed.) / *Handbook of Physiology, Section 1: The Nervous System, // Vol. IV: Intrinsic Regulatory Systems of the Brain*, American Physiological Society, Bethesda, MD 1986. pp. 463-524.

129. Filiano A. J. How and why do T cells and their derived cytokines affect the injured and healthy brain? / A.J. Filiano, S.P. Gadani, J. Kipnis // *Nat Rev Neurosci.* - 2017. - Jun; 18 (6) – P. 375–384.
130. Freedman A.S. Pre-exposure of human B-cell to recombinant IL-1 enhances subsequent proliferation / A.S. Freedman, G. Freeman, J. Whitman [et al.] // *J. Immunol.* – 1988. – Vol. 141, №10. – P. 3398-3404.
131. Gordon F.J. Effect of nucleus tractus solitarius lesions on fever produced by interleukin1beta // *Auton. Neurosci.* - 2000. - V. 85. - P. 102-111.
132. Graff G.R. Cardiorespiratory responses to interleukin1beta in adult rats: role of nitric oxide, eicosanoids and glucocorticoids / G.R. Graff, D. Gozal // *Arch. Physiol. Biochem.* - 1999. - V. 107. - P. 97-112.
133. Greenfeder S.A. Molecular cloning and characterization of a second subunit of the interleukin 1 receptor complex. / S.A. Greenfeder, P. Nunes, L. Kwee, M. Labow, R.A. Chizzonite, G. Ju // *J Biol Chem.* - 1995 – V. 270(23). - P. 13757 - 13765.
134. Greenfeder S.A. Insertion of a structural domain of interleukin (IL)-1 beta confers agonist activity to the IL-1 receptor antagonist. / Greenfeder S.A., Varnell T., Powers G. [et al] // *J Biol Chem.* – 1995 – V. 270(38). - P. 22460 - 22466.
135. Gross P.M. Microvascular specializations promoting rapid interstitial solute dispersion in nucleus tractus solitarius / P.M. Gross, K.M. Wall, J.J. Pang [et al.] // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* - 1990. - V. 259. - P. R1131.
136. Grunstein M.V. Effect of body temperature on respiratory frequency in anaesthetized cats. / M.V. Grunstein, W.M. Fisk, L.A. Leiter, J. Milic-Emili // *J. Appl. Physiol.* – 1973. - Vol. 34 - P. 154-159.
137. Guyenet P.G. Central respiratory chemoreception/ P.G. Guyenet, R.L. Stornetta, D.A. Bayliss// *J Comp Neurol.* - 2010 Oct 1 – V. 518(19). - P. 3883-38906.
138. Guyenet P.G. Retrotrapezoid nucleus and parafacial respiratory group / P.G. Guyenet, D.K. Mulkey // *Respire Physiol Neurobiol.* – 2010 Oct 31 – V. 173(3). – P. 244-255.

139. Guyenet P.G. Retrotrapezoid nucleus and central chemoreception. / P.G. Guyenet, R.L. Stornetta, D.A. Bayliss // *J Physiol.* – 2008 – V. 586(8). – P. 2043 - 2048.
140. Guyenet P.G. The 2008 Carl Ludwing Lecture: retrotrapezoid nucleus, CO<sub>2</sub> homeostasis, and breathing automaticity / P.G. Guyenet // *J Appl Physiol* (1985) – 2008 Aug –V. 105(2). - P. 404-416.
141. Haji A. Physiological properties of late inspiratory neurons and their possible involvement in inspiratory off-switching in cats. / A. Haji, M. Okazaki, H. Yamazaki, R. Takeda. // *Neurophysiol.* – 2002. – 87. - P. 1057-1067.
142. Hansen M.K. Vagotomy blocks the induction of interleukin1 $\beta$  (IL1 $\beta$ ) mRNA in the brain of rats in Response to systemic IL1 $\beta$  / M.K. Hansen, P. Taishi, Z. Chen, J.M. Krueger // *J. Neurosci.* - 1998. - V. 18. № 6. - P. 2247.
143. Hayashi F. Respiratory neurons mediating the Breuer-Hering reflex prolongation of expiration in rat. / F. Hayashi, S.K. Coles, D.R. McCrimmon // *J Neurosci.* – 1996. – Vol. 16. –No 20. – P. 6526–6536.
144. Hayward L. F. Lateral parabrachial nucleus modulates baroreflex regulation of sympathetic nerve activity / L. F. Hayward, R. B. Felder // *Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol.* -1998. - Vol. 274. - No. 43. - P. R1274-R1282.
145. Hayward L. F. Increased c-Fos expression select lateral parabrachial subnuclei following chemical versus electrical stimulation of the dorsal periaqueductal gray in rats / L. F. Hayward, M. Castellanos // *Brain Res.* - 2003. - Vol. 974. - Issues 1-2. -P. 153-166.
146. Herlenius E. An inflammatory pathway to apnea and autonomic dysregulation. // *Respiratory Physiology & Neurobiology.* – 2011. – 178. – P. 449– 457.
147. Ho S. N. Interleukin-1 mediated activation of interleukin-4-producing T-lymphocytesS. N. / Ho, R.T. Abraham, A. Nilsonet. // *J. Immunol.* – 1997. – Vol. 139, №5. – P. 1532-1540.
148. Hoskin R.W. Excitation of supper cervical inspiratory neurons of the nucleus retroambigualis in the cat / R.W. Hoskin, J. Duffin // *Expl. Neurol.* - 1987. - V. 98. - P. 404-417.

149. Hofstetter A.O. Interleukin1beta depresses hypoxic gasping and autoresuscitation in neonatal DBA / 11acJ mice / A.O. Hofstetter, E. Herlenius // *Respir. Physiol. Neurobiol.* - 2005. - V. 146. № 2–3. - P. 135.
150. Hofstetter A.O. The induced prostaglandin E2 pathway is a key regulator of the respiratory response to infection and hypoxia in neonates. / A.O. Hofstetter, S. Saha, V. Siljehav [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2007. - 104 (23). – P. 98-94.
151. Jodkowski J. A ‘pneumotaxic centre’ in rats. / J. Jodkowski, S. Coles, T.E. Dick // *Neurosci. Lett.* – 1994. – 172. -P. 67-72.
152. Jodkowski J. Prolongation in expiration evoked from ventrolateral pons of adult rats. / J. Jodkowski, S. Coles, T.E. Dick // *J. Appl. Physiol.* – 1997. – 82. -P. 377-381.
153. Koizumi H. Persistent Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup>-dominated leak currents contribute to respiratory rhythm generation in the pre-Botzinger complex in vitro / H. Koizumi, J.C. Smith // *J. Neurosci.* – 2008 Feb 13 – V. 28(7). - P. 1773 – 1785.
154. Knox C.K. Characteristics of inflation and deflation reflex during expiration in the cat. // *J. Neurophysiol.* – 1973. - Vol. 36. - P. 284-295.
155. Kubin L. Central pathways of pulmonary and lower airway vagal afferents / L. Kubin, G.F. Alheid, E.J. Zuperku, D. McCrimmon // *J Appl Physiol.* – 2006. – Vol. 101. – No2. – P. 618–627.
156. Kumar S. Role of Cytokines in Heart Failure / S.Kumar, S. Maulik // *J Pharmacol Rep.* - 2017. - 2:1 – P. 1-6.
157. Kurt-Jones E.A. Identification of a membrane associated interleukin-1 in macrophages / E.A. Kurt-Jones, D.I. Beller, S.B. Mzel, E.R. Unanue // *Proc. nat. Acad. Sci. USA.* – 1985. – Vol. 82, №4. – P. 1204-1208.
158. Kurt-Jones E., Virgin H., Unanue E. Relationship of macrophage Ia and membrane IL-1 expression to antigen presentation / E. Kurt-Jones, H. Virgin, E. Unanue // *J. Immunol.* – 1982. – Vol. 135, №6. – P. 3652-3654.
159. Kuwana S. Electrophysiological and morphological characteristics of GABAergic respiratory neurons in the mouse pre-Botzinger complex. / S.

- Kuwana, N. Tsunekawa, Y. Yanagawa, Y. Okada, J. Kuribayashi, K. Obata // *Eur J Neurosci.* – 2006 – V. 23(3). – P. 667 - 674.
160. Lacroix S. C-fos mRNA pattern and corticotropin-releasing factor neuronal activity throughout the brain of rats injected centrally with a prostaglandin of E2 type. / S. Lacroix, L. Vallieres, S. Rivest // *J. Neuroimmunol.* -1996. - 70 (2). P. 163 - 79.
161. Lara J. P. Laryngeal effects of stimulation of rostral and ventral pons in the anaesthetized rat / J. P. Lara, M. S. Dawid-Milner, M. V. Lopez, C. Montes, [et all.] // *Brain Research.* - 2002. - Vol. 934. - P. 97-106.
162. Lewis T.C. Influence of viral infection on the relationships between airway cytokines and lung function in asthmatic children. / T.C.Lewis, E.E. Metititri, G.B. Mentz [et.al.] // *Respiratory Research* – 2018. - 19:228.
163. Lipski, J. Synaptic action of RP neurons on phrenic motoneurons studied with spike-triggered averaging. / J. Lipski, L. Kubin, J. Jodkowski. // *Brain Res.* - 1983. – 288 – P. 105-118.
164. Long S. The neuronal determinants of respiratory rhythm / S. Long, J. Duffin // *Prog. Neurobiol.* - 1986. - V. 27. - P. 101-182.
165. Lowenthal J.W. Expression of interleukin-1 receptors is restricted to the L3T4+ subset of mature T-lymphocytes / J.W. Lowenthal, H.R. MacDonald // *J. Immunol.* – 1987. – Vol. 138, №1. – P. 470-473.
166. Lumsden, T. Observations on the respiratory centres in the cat // *J. Physiol., London.* – 1923. – 57. -P. 153-160.
167. Maier S.F. The role of the vagus nerve in cytokine-brain communication / S.F. Maier, L.E. Goehler, M. Fleshner, L.R. Watkins // *Ann. NY Acad. Sci.* - 1998. - V. 840. - P. 289.
168. Matsushima K. Regulation of interleukin-1 receptor expression and protein phosphorylation induced by IL-1 stimulation/ K. Matsushima, T. Akahoshi, J.J. Oppenheim // *Ann. Inst. Pasteur.* – 1987. – Vol. 138, №3. – P. 478-481.
169. Matsushima A. Intracellular localization of human monocyte associated interleukin-1 activity and release of biologically active IL-1 from monocytes by trypsin and plasmin/ A.Matsushima, M. Taguchi, E.J. Kovacs [et. al.] // *J. Immunol.* – 1986. – Vol. 136, №8. – P. 2883-2892.

170. Merrill E.G. The lateral respiratory neurones in the medulla: their associations with nucleus ambiguus, nucleus retroambiguus, the spinal accessory nucleus and the spinal cord // *Brain Res.* - 1970. - V. 24. - P. 11-28.
171. Merrill E.G. Where are the real respiratory neurons? // *Federat. Proc.* - 1981. - V. 40. - P. 2389-2394.
172. Milenkovic, V.M. The Role of Chemokines in the Pathophysiology of Major Depressive Disorder./V.M.Milenkovic, E.H. Stanton, C. Nothdurfter, R. Rupprecht [et.al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2019. - V. 20.- I. 9. – p. 2283.
173. Miller A.d. Control of abdominal muscles by brain stem respiratory neurons in the cat / A.D. Miller, K. Ezure, I. Suzuki // *J. Neurophysiol.* - 1985. - V. 54. - P. 155-167.
174. Misava M. Involvement of inhibitory innervation in reflex tracheal dilatation induced by lung inflation / M. Misava, Y. Takahashi, T. Hosokava, S. Yanaura // *Jap. J. Physiol.* - 1990. – Vol. 52, № 4. – P. 639 – 642.
175. Miserocchi, G. Effect of mechanical factors on the relation between rate and depth of breathing in cats. / G. Miserocchi, J. Milic - Emili. // *J. Appl. Physiol.* – 1976. - 41 – P. 277–284.
176. Miura M. Circulatory and respiratory responses to glutamate stimulation of the lateral parabrachial nucleus of the cat / M. Miura, K. Takayama // *J. Auton. Nerv. Syst.* -1991. Vol. 32. - No. 2. - P. 121-133.
177. Miyazaki M. Excitatory and inhibitory synaptic inputs shape the discharge pattern of pump neurons of the nucleus tractus solitarii in the rat. *Exp Brain Res* / M. Miyazaki, I. Tanaka, K. Ezure // 1999. - Vol. 129, № 2. - P. 191-200.
178. Mizel S.B. The interleukin-1 receptor. Dynamics of interleukin-1 binding and internalization in T-cell and fibroblasts / S.B. Mizel, P.L.Kilian, J.C. Lewes [et al.] // *J. Immunol.* – 1987.-Vol. 138 , NO 4,-P. 2906-2912.
179. Molkov Y.I. Intermittent hypoxia-induced sensitization of central chemoreceptors contributes to sympathetic nerve activity during late expiration in rats. / Y.I.Molkov, D.B. Zoccal, D.J. Moraes, J.F. Paton, B.H. Machado, I.A. Rybak. // *J Neurophysiol.* – 2011 Jun. – Vol. 105 (6). – P. 3080-3091.

180. Morgado-Valle C. Glycinergic pacemaker neurons in preBötzing complex of neonatal mouse. / C. Morgado-Valle, S.M. Baca, J.L. Feldman // *J Neurosci.* – 2010. - Vol. 30(10). – P. 3634 - 3639.
181. Mouradian G.C. Acute and chronic effects of carotid body denervation on ventilation and chemoreflexes in three rat strains. / G.C. Mouradian, H.V. Forster, M.R. Hodges // *J Physiol.* – 2012 – V. 590(14). – P. 3335 - 3347.
182. Mulkey D.K. Oxidative stress decreases pH and Na(+)/H(+) exchange and increases excitability of solitary complex neurons from rat brain slices. / D.K. Mulkey, R.A. Henderson 3rd, N.A. Ritucci, R.W. Putnam, J.B. Dean // *J Physiol Cell Physiol* – 2004 Apr – V. 286(4). – P. 940-951.
183. Mutolo D. Respiratory responses to chemical stimulation of the parabrachial nuclear complex in the rabbit / D. Mutolo, F. Bongiani, M. Cafi, T. Pantaleo // *Brain Research.* -1998. - Vol. 807. - P. 182-186.
184. 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 bloodbrain barrier / S. Nadeau, S. Rivest // *Neuroscience.* - 1999. Vol. 93. № 4. - P. 1449.
185. Nakamori T., Morimoto A., Murakami N. Effect of a central CRF antagonist on cardiovascular and thermoregulatory responses induced by stress or IL-1 $\beta$ . / T. Nakamori, A. Morimoto, N. Murakami // *American Journal of Physiology.* – 1993. – 265. – P. 834 - 839.
186. Nattie E, Li A. Central chemoreception is a complex system function that involves multiple brain stem sites. / E. Nattie, A. Li. // *J Appl. Physiol.*(1985)-2009. - 106(4). - P. 1464 - 1466.
187. Nattie E.E. CO<sub>2</sub> dialysis in nucleus tractus solitarius region of rat increases ventilation in sleep and wakefulness / E.E. Nattie, A.H. Li // *J. Appl. Physiol.* - 2002. V. 92. - № 5. - P. 2119-2130.
188. Nattie E.E. Rat retrotrapezoid nucleus iono- and metabotropic glutamate receptors and the control of breathing. / E.E. Nattie, A.Li. // *J Appl. Physiol.* (1985) - 1995. – V. 78(1). – P. 153 - 163.



189. Niijima A. The affect discharges from sensors for interleukin 1 beta in the heratoportal system in the anesthetized rat. / A.Niijima // J Auton. Nerv. Syst. - 1996 Dec 14 – V. 61(3). – P. 287-291.
190. Neeb L. IL-1b stimulates COX-2 dependent PGE2 synthesis and CGRP release in rat trigeminal ganglia cells. / L. Neeb, P. Hellen, C. Boehnke, J. Hoffmann et al. // PLoS One. – 2011. - 6(3). P.17360. doi:10.1371. journal. pone. 0017360.
191. Okazaki M. Synaptic mechanisms of inspiratory offswitching evoked by pontine pneumotaxic stimulation in cats / M. Okazaki, R. Takeda, H. Yamazaki, A. Haji, // Neurosci. Res. – 2002. - 44.P. 101-110.
192. Olsson A. IL1 beta depresses respiration and anoxic survival via a prostaglandindependent pathway in neonatal rats / A. Olsson, G. Kayhan, H. Lagercrantz, E. Herlenius // Pediatr. Res. - 2003. - Vol. 54. № 3. - P. 326-331.
193. Otis A. B. The work of breathing. In.: Handbook of Physiol. Sec. III. Respiration. - 1964. - Vol. 1. - P. 463 – 476.
194. Onimaru H. A novel functional neuron group for respiratory rhythm generation in the ventral medulla. / H. Onimaru, I. Homma // J Neurosci. – 2003 – V. 23(4). – P. 1478 - 1486.
195. Pagliardini S. Active expiration induced by excitation of ventral medulla in adult anesthetized rats. / S. Pagliardini, W.A. Janczewski, W. Tan, C.T. Dickson, K. Deisseroth, J. Feldman // J Neurosci. – 2011 Feb 23 – V. 31(8). – P. 2895-2905.
196. Paxinos G., Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates // Academic Press. 1982.
197. Pistoia V. In vitro production of interleukin-1 by normal and malignant human B-lymphocytes/ V. Pistoia, F. Cozzolino, A .Rubartelli [et. al.] //J. immunol.- 1986.-Vol. 136, NO 5.-P. 1688-1692
198. Prajeeth C.K. IFN- $\gamma$  Producing Th1 Cells Induce Different Transcriptional Profiles in Microglia and Astrocytes. / C.K.Prajeeth, O.Dittrich-Breiholz, S.R.Talbot, P.A.Robert, J.Huehn // Front. Cell. Neurosci. – 2018. - 12. - 352.
199. Purvis L.K. Intrinsic bursters increase the robustness of rhythm generation in an excitatory network. / L.K. Purvis, J.C. Smith, H. Koizumi, B.J. Butera // J Neurophysiol. - 2007 – V.97 (2). - P.1515 - 1526.

200. Rabbette P. S., Stocks J. Influence of volume dependency and timing of airway occlusions on the Hering-Breuer reflex in infants. / P. S.Rabbette, J. Stocks // *J. Appl. Physiol.* – 1998. - 85(6). – P. 2033–2039.
201. Ramirez J.M. The neuronal mechanisms of breathing rhythm generation / J.M. Ramirez, D.W. Richter // *Curr. Opin. Neurobiol.*- 1996. - Vol. 6, N 3. - P. 817-825.
202. Remmers J.E. Reflex control of expiratory airflow and duration. / J.E. Remmers, D. Bartlett // *J. Appl. Physiol.* – 1977. - Vol. 42. - P. 80-87.
203. Richter D. How is the respiratory rhythm generated, a model. / D. Richter, D. Ballantyne, J.E. Remmers, // *News Physiol. Sci.* – 1986. – 1. - P. 109-112.
204. Richter D.W. Neural regulation of respiration: rhythmogenesis and afferent control. / D.W. Richter, R. Gregor, U. Windhorst (Eds.) // *Comprehensive Human Physiology*, SpringerVerlag, Berlin. - 1996. - Vol. II - P. 2079-2095.
205. Richter D.W. Studying rhythmogenesis of breathing: comparison of in vivo and in vitro models. / D.W. Richter, K.M. Spyer // *Trends Neurosci.* – 2001 – V. 24(8). – P. 464 - 472.
206. Rigatto H. In search of the real respiratory neurons: culture of medullary fetal cells sensitive to CO<sub>2</sub> and low pH / H. Rigatto, S.F. Fitzgerald, M.A. Willis, C. Yu // *Biol. Neonate.* - 1994. - Vol. 65, N3. - P. 149-155.
207. Rothwell N.J. Cytokines and the nervous system II: Actions and mechanisms of action. / N.J. Rothwell, S.J. Hopkins // *Trends. Neurosci.*- 1995. - (18). – P. 130 - 136.
208. Rybak, I.A. Modeling neural mechanisms for genesis of respiratory rhythm and pattern: II. Network models of the central respiratory pattern generator / I.A. Rybak, J.F.R. Paton, J.S. Schwaber. // *J. Neurophysiol.* –1997b. – 77. -P. 2007-2026.
209. Saleh T. M. Estrogen-induced autonomic effects are mediate by NMDA and GABA<sub>A</sub> receptors in the parabrachial nucleus / T. M. Saleh, B. J. Connel // *Brain Research.* -2003. Vol. 973. - Issue 2. - P. 161-170.
210. Saleh T. M. Estrogen in the parabrachial nucleus attenuates the sympathoexcitation following MCAO in male rats / T. M. Saleh, B. J. Connel, A. E. Cribb // *Brain Research.* 2005. - Vol. 1066. - Issue 1-2. - P. 187-195.

211. Sant'Ambrogio G. Airway receptors in cough / G. Sant'Ambrogio, F.D. Sant'Ambrogio, A. Davis // *Bull. Eur. Physiopathol. Respir.* - 1984. – Vol. 20 (1). – P. 43 – 47.
212. Sant'Ambrogio G. Reflex from airway rapidly adapting receptors / G. Sant'Ambrogio, J. Widdicombe // *Respir. Physiol.* - 2001. - Vol.125, N 1-2. - P. 33-45
213. Sasaki H. Morphology of augmenting inspiratory neurons of the ventral respiratory group in the cat // *J. Comp. Neurol.* - 1989. - Vol. 282. - P. 157-168.
214. Schetini G. Effect of interleukin-1 beta on transduction mechanisms in 235-1 clonal pituitary cells 2. Modulation of calcium fluxes / G. Schetini, O. Meucci, T. Florio et al. // *BBRC.*-1998. - Vol. 155, no 3.- P. 1089-1096
215. Schreihöfer A.M. Thirst and salt appetite elicited by hypovolemia in rats with chronic lesions of the nucleus of the solitary tract. / A.M. Schreihöfer, B.K. Anderson, J.C. Schiltz, L. Xu, A.F. Sved, E.M. Stricker // *Am J Physiol.* - 1999- V. 276(1). – P. 251 - 258.
216. Schwarzacher S.W. Pre-Botzinger complex in the cat / S.W. Schwarzacher, J.C. Smith, D.W. Richter // *J. Neurophysiol.* - 1995. - Vol. 73. - P. 1452-1461
217. Shao. Y. Immunosuppressive/anti-inflammatory cytokines directly and indirectly inhibit endothelial dysfunction- a novel mechanism for maintaining vascular function. / Y. Shao, Cheng, V. Chernaya, H. Wang [et. all.] // *Journal of Hematology & Oncology* - 31 October 2014.
218. Shevtsova N.A. Computational modelling of 5-HT receptor-mediated reorganization of the brainstem respiratory network. / N.A. Shevtsova, T. Manzke, Y. I. Molkov [et al]. // *Eur J Neurosci.* – 2011 – V. 34(8). – P. 1276 - 1291.
219. Sharma S. Molecular cloning and expression of a human B-cell growth factor gene in *Escherichia coli* / S. Sharma, S. Mehta, J. Morgan, A. Maizel // *Science.* - 1987.- Vol. 235 , NO 4795.-P. 1489-1492
220. Shu H. F. [et al] IL-1beta inhibits IK and increases  $[Ca^{2+}]_i$  in the carotid body glomus cells and increases carotid sinus nerve firings in the rat / H. F. Shu [et al.] // *Eur. J. Neurosci.* – 2007. – Vol. 25 (12). – P. 3638–3647.

221. Seifert E. Effects of baclofen on the Hering-Breuer inspiratory-inhibitory and deflation reflexes in rats. / E. Seifert, T. Trippenbach // *Am. J. Physiol.* – 1998. – 274 (43). – P. 462–468.
222. Sivangala R. Cytokines that Mediate and Regulate Immune Responses. / R. Sivangala, G. Sumanlatha // *Innovative Immunology.* – Austin Publishing Group. – 2015. – April 15. – P. 1-27.
223. Smith J.C. Structural and functional architecture of respiratory networks in the mammalian brainstem. / J.C. Smith, A.P. Abdala, I.A. Rybak, J.F. Paton // *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* - 2009 - 364(1529). – P. 2577 - 2587.
224. Smith S.M. Correspondence of the brain's functional architecture during activation and rest. / S.M. Smith, P.T. Fox, L.K. Miller, D.C. Glahn, P.M. Fox, C.E. Mackay, N. Filippini, K.E. Watkins, R. Toro, A.R. Laird, C.F. Beckmann // *Proc Natl Acad Sci USA.* - 2009 Aug 4 – V. 106(31). - P. 13040-13045.
225. Smith J.C. PreBotzinger complex: a brainstem region that may generate respiratory rhythm in mammals / J.C. Smith, H.H. Ellenberger, K. Ballanyi, D.W. Richter [et al.] // *Science.* - 1991. - Vol. 254. - P. 726-729.
226. Solomon I.C. Pre-Botzinger complex functions as a central hypoxia chemosensor for respiration in vivo // *J. Neurophysiol.* - 2000. - Vol. 83, N5. - P. 2854-2868.
227. St.-John, W.M. Neurogenesis of patterns of automatic ventilatory activity // *Prog. Neurobiol.* – 1998. – 56. -P. 97-117.
228. Stornetta R.L. A group of glutamatergic interneurons expressing high levels of both neurokinin-1 receptors and somatostatin identifies the region of the pre-Botzinger complex. / R.L. Stornetta, D.L. Rosin, H. Wang, C.P. Sevigny, M.C. Weston, P.G. Guyenet // *J Comp Neurol.* – 2003 Jan 20 – V. 455(4). - P. 499-512.
229. Stornetta R.L. Expression of Phox2b by brainstem neurons involved in chemosensory integration in the adult rat. / R.L. Stornetta, T.S. Morenira, A.C. Takakura, B.J. Kang, D.A. Chang, G.H. West, J.F. Brunet, D.K.,

- Mulkey, D.A. Bayliss, P.G. Guyenet // *J Neurosci.* – 2006 Oct. 4 – V. 26(40). - P. 10305-10314.
230. Stornetta R.L. Galanin is a selective marker of the retrotrapezoid nucleus in rats. / R.L. Stornetta, D. Spirovski, T.S. Moreira, A.C. Takakura, G.H. West, J.M. Gwilt, P.M. Pilowsky, P.G. Guyenet // *J Comp Neurol.* - 2009 Jan. 20 – V. 512(3) – P. 373-383.
231. Stornetta R.L. Neurochemistry of bulbospinal presympathetic neurons of the medulla oblongata. / R.L. Stornetta // *J Chem Neuroanat.* – 2009 Nov – V. 38 (3). - P. 222-230.
232. Stornetta R.L. Inspiratory augmenting bulbospinal neurons express both glutamatergic and enkephalinergic phenotypes. / R.L. Stornetta, C.P. Sevigny, P.G. Guyenet // *J Comp Neurol.* – 2003 Jan 1 – V. 455(1). – P. 113-124.
233. Stuart M.J. Systematic review of the neurobiological relevance of chemokines to psychiatric disorders. / M.J. Stuart, G. Singhal, B.T. Baune // *Front. Cell. Neurosci.* – 2015. - 9:357. doi: 10.3389/fncel.2015.00357
234. Takakura C. GABAergic Pump cells of solitary tract nucleus innervate retrotrapezoid nucleus chemoreceptors. / C. Takakura, T.S. Moreira, G. H. West, J.M. Gwilt [et al.] // *J Neurophysiol.* – 2007. -Vol.98. – No 1. – P. 374–381.
235. Thoby-Brisson M. Genetic identification of an embryonic parafacial oscillator coupling to the preBotzinger complex / M. Thoby-Brisson, M. Karlen, N. Wu, P. Charnay, J. Champagnat, G. Fortin // *Nat. Neurosci* – 2009 Aug. – Vol. 12(8). - P. 1028-1035.
236. Thoby-Brisson M. Identification of two types of inspiratory pacemaker neurons in the isolated respiratory neural network of mice / M. Thoby-Brisson, J.M. Ramirez // *J Neurophysiol* - 2001 Jul. – V. 86(1). – P. 104-112.
237. Toporikova N. Two types of independent bursting mechanisms in inspiratory neurons: an integrative model. /N. Toporikova, R.J. Butera // *J Comput Neurosci.* – 2011 – V. 30(3). – P. 512-528.

238. Van der Kooy D.D. Organization of the projections of a circumventricular organ: the area postrema in the rat / D.D. Van der Kooy, L.Y. Koda // *J. Comp. Neurol.* - 1983. - Vol. 219. - P. 328.
239. Wang, W. Pontile regulation of ventilatory activity in the adult rat / W. Wang, M.-L. Fung, W.M. St-John, // *J. Appl. Physiol.* - 1993. - 74. - P. 2801-2811.
240. Watanabe T. Possible involvement of glucocorticoids in the modulation of interleukin-1-induced cardiovascular responses in rats / T. Watanabe, N. Tan, Y. Saiki, T. Makisumi [et al.]// *Journal of Physiology.* - 1996. - 491(1). - P. 231 - 239.
241. Widdicombe J. Reflexes from the lungs and airways: historical perspective // *J Appl Physiol.* - 2006. - Vol. 101. - P. 628-634.
242. Widdicombe J.G. Respiratory reflexes. In: *Handbook of physiology, sect 3, Respiration* / J.G. Wilddicombe, D.C. Washington // *Amer. Physiol. Soc.* - 1964 - Vol. 1. - P. 585-630.
243. Widdicombe J.G. Respiratory reflexes in man and other mammalian species / J.G. Widdicombe // *Clin Sci.* - 1961 Oct - V. 21. - P. 163-170.
244. Widdicombe J. Airway receptors// *Respir. Physiol.* - 2001. - Vol.125, N 1-2. - P. 3-15.
245. Widdicombe J. G. Pulmonary and respiratory tract receptors // *J. Exp. Biol.*- 1982. - Vol. 100. - P. 41-57.
246. Wong M.L. Localization of interleukin 1 type I receptor mRNA in rat brain / M.L. Wong, J. Licinio // *Neuroimmunomodulation.* - 1994. - Vol. 1. № 2. - P. 110.
247. Wong M.L. Localization of interleukin1 beta converting enzyme mRNA in rat vasculature: evidence that the genes encoding the interleukin1 system are constitutively expressed in brain blood vessels. Pathophysiological implications / M.L. Wong, P.B. Bongiorno, P.W. Gold, J. Licinio // *Neuroimmunomodulation.* - 1995. - Vol. 2. № 3. - P. 141-149.
248. Yang R. Biological functions and role of CCN1/Cyr61 in embryogenesis and tumorigenesis in the female reproductive system (Review) / R. Yang, Y. Chen, D. Chen // *Molecular Medicine Reports.* - 2017 - 26. - P. 3-10.

249. Younes M. Mecanism of rapid ventilatory compensation to added elastic loads in cats. / M. Younes, W. Arkininstall, J. Millic-Emili // J. Appl. Physiol. – 1973. - 35 (4) - P. 443 -453.
250. Zechman F. W. Respiratory volume-time relationship during resistive loading in the cat. / F. W. Zechman, D. T. Frasier D. A. Lally // J. Appl. Physiol. – 1976. - 40 (2). –P. 177 -183.