

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ  
ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИИ ИМ. И.П. ПАВЛОВА  
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК**

*На правах рукописи*

Туманова Татьяна Сергеевна.

**ЦЕНТРАЛЬНЫЙ КОНТРОЛЬ КРОВООБРАЩЕНИЯ И ДЫХАНИЯ ПРИ  
МОДЕЛИРОВАНИИ ЭФФЕКТОВ ЭНДОТОКСИНЕМИИ**

Специальность 1.5.5 – Физиология человека и животных

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Научный руководитель:  
доктор биологических наук,  
профессор  
Александров В.Г.

Санкт-Петербург  
2024

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ</b>	4
<b>ВВЕДЕНИЕ</b>	6
<b>ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРНЫХ ИСТОЧНИКОВ</b>	12
1.1. Современные концепции нервной регуляции вегетативных функций	12
1.1.1. Концепция церебровисцеральных осей	12
1.1.2. Концепция центральной автономной сети	14
1.1.3. Иерархическая модель нейровисцеральной интеграции	17
1.2. Центральный контроль кровообращения и дыхания	20
1.2.1. Структурно-функциональная организация нервной регуляции кровообращения	20
1.2.2. Рефлекторные механизмы регуляции кровообращения	21
1.2.3. Структурно-функциональная организация нервной регуляции дыхания	23
1.2.4. Рефлекторные механизмы регуляции дыхания	26
1.3. Эндотоксинемия и системная воспалительная реакция (СВР)	30
1.3.1. Бактериальные липополисахариды и эндотоксинемия	30
1.3.2. Общая характеристика системной воспалительной реакции	34
1.3.3. Сепсис	35
1.3.4. Моделирование системной воспалительной реакции	37
1.4. Провоспалительные цитокины	40
1.4.1. Общая характеристика и классификация	41
1.4.2. Индукция провоспалительных цитокинов при эндотоксинемии	42
1.5. Гипоталамо-гипофизарно-адреналовая ось	44
1.5.1. Состав и функции гипоталамо-гипофизарно-адреналовой оси	44
1.5.2. Гормоны коры надпочечников и их синтетические аналоги	45
1.5.3. Гипоталамо-гипофизарно-адреналовая ось при эндотоксинемии	48
 <b>ГЛАВА 2. ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</b>	 50
2.1. Объект исследования	50
2.2. Хирургическая подготовка животного	50
2.3. Отбор образцов и анализ крови	51
2.4. Методы регистрации параметров дыхания и кровообращения	52
2.5. Методы тестирования автономных рефлексов	53
2.6. Микроэлектростимуляция коры	55
2.7. Экспериментальные протоколы	56
2.8. Гистологический контроль	56
2.9. Аппаратно-программный комплекс	57
2.10. Статистическая обработка экспериментальных данных	58
 <b>ГЛАВА 3. ВЛИЯНИЕ ЭНДОТОКСИНА НА КОЛИЧЕСТВО И СОСТАВ ЛЕЙКОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ</b>	 59
3.1. Методические замечания	60
3.2. Результаты экспериментов	61
3.2.1. Эффекты хирургического вмешательства	61
3.2.2. Эффекты введения ЛПС условно интактным крысам	62
3.2.3. Эффекты введения ЛПС «ложно» оперированным крысам	63
3.3. Обсуждение полученных результатов	65

<b>ГЛАВА 4. ВЛИЯНИЕ ЭНДОТОКСИНА НА ЦЕНТРАЛЬНЫЕ МЕХАНИЗМЫ КОНТРОЛЯ КРОВООБРАЩЕНИЯ И ДЫХАНИЯ</b>	68
4.1. Методические замечания	69
4.2. Влияние ЛПС на параметры кровообращения и дыхания, барорефлекс и инспираторно-тормозящий рефлекс	70
4.2.1. Результаты контрольных экспериментов	70
4.2.2. Эффекты ЛПС выделенного из <i>S. typhi</i>	74
4.2.3. Эффекты ЛПС выделенного из <i>E. coli</i>	75
4.3. Влияние ЛПС на барорефлекс и эффекты стимуляции коры	78
4.4. Обсуждение полученных результатов	83
<b>ГЛАВА 5 ЭФФЕКТЫ ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛИ</b>	90
5.1. Методические замечания	91
5.2. Влияние ФНО на параметры кровообращения и барорефлекс	92
5.3. Влияние ФНО на параметры дыхания и инспираторно-тормозящий рефлекс	94
5.4. Обсуждение полученных результатов	97
<b>ГЛАВА 6 ЭФФЕКТЫ СИСТЕМНОГО ВВЕДЕНИЯ ДЕКСАМЕТАЗОНА</b>	103
6.1. Методические замечания	104
6.2. Результаты контрольных экспериментов	105
6.3. Результаты экспериментов с введением дексаметазона	107
6.4. Обсуждение результатов	108
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ</b>	116
<b>ВЫВОДЫ</b>	119
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ</b>	120

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АД – артериальное давление

АДср – среднее артериальное давление

АКТГ – адренкортикотропный гормон, адренкортикотропин

БР – сердечный барорефлекс

БРЧ – барорефлекторная чувствительность

ГАМК – гамма-аминомасляная кислота

ГК – глюкокортикоидные гормоны

ГКР – глюкокортикоидные рецепторы

ГЛУ – глутамат

ГЭБ – гематоэнцефалический барьер

ДК – диклофенак

ДМ – дексаметазон

ДО – дыхательный объем

ИЛ – интерлейкин

ИЛ-1 $\beta$  – интерлейкин – 1 бета

ИЛК – инфралимбическая кора

ИНС - инсулярная (островковая) кора

ИТР – инспираторно-тормозящий рефлекс Геринга-Брейера

ЛПС – липополисахарид (эндотоксин)

МОД – минутный объем дыхания

ПГ - простагландины

ПТГ - пневмотахограмма

СВР – системная воспалительная реакция

ФНО - фактор некроза опухоли, кахектин (tumor necrosis factor)

ФЭ – фенилэфрин

ЦАС – центральная автономная сеть, central autonomic network

ЦНС – центральная нервная система

ЦОГ - циклооксигеназа

ЧСС – частота сердечных сокращений

ЧД – частота дыхания

ЭМГди – электромиограмма диафрагмы

ЯСТ – ядро солитарного тракта

CVLM - caudal ventrolateral medulla, каудальное вентролатеральное мозговое вещество продолговатого мозга

DMN - dorsal motor nucleus, дорсальное моторное ядро блуждающего нерва

HPA - hypothalamic–pituitary–adrenal axis, гипоталамо-гипофизарно-адреналовая ось

LHA - латеральная гипоталамическая область

LYM – лимфоциты

MD-2 - myeloid differentiation protein-2, корецептор

mGluR - метаботропные рецепторы глутамата

MID - моноциты/эозинофилы и их предшественники

NEUT – нейтрофилы

NO – оксид азота

RVLM - rostral ventrolateral medulla, роstralное вентролатеральное мозговое вещество продолговатого мозга

TIR - toll/IL-1- receptor, толл-подобный рецептор интерлейкина-1

TLR4 - toll-like receptor 4, толл-подобный рецептор 4

WBC - общее количество лейкоцитов в крови

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность проблемы

Выяснение механизмов взаимодействия регуляторных систем, в том числе нервной, иммунной и эндокринной, в условиях изменённого состояния внутренней среды организма, представляет собой актуальную проблему современной физиологии (Andersson, Tracey, 2012; Tsigos et al., 2020; Asadi et al., 2022; Dicks, 2022). Одним из аспектов этой проблемы являются малоизученные закономерности функционирования центральных нервных механизмов контроля висцеральных систем в условиях эндотоксинемии.

Согласно современным представлениям (Sklerov et al., 2019; Lamotte et al., 2021), активность систем кровообращения и дыхания контролируется центральной автономной сетью (ЦАС). Эта сеть образована структурами, которые находятся на разных уровнях нервной оси и связаны между собой многочисленными, часто реципрокными, связями (Benarroch et al., 2012; Aleksandrov et al., 2021). В состав ЦАС входят области префронтальной коры, которые расположены на медиальной (инфраламбическая кора, ИЛК) и латеральной (инсулярная кора, ИНС) поверхностях коры больших полушарий и содержат представительства висцеральных систем (Smith et al., 2017; Lamotte et al., 2021). Области висцеральной коры образуют прямые и опосредованные проекции к группам бульбарных нейронов, которые входят в состав рефлекторных дуг, регулирующих артериальное давление (АД) и паттерн дыхания (Gabbot et al., 2005; Verberne, 2011, Gasparini et al., 2020). Электрическая микроstimуляция ИЛК и ИНС вызывает изменения АД и перестройки паттерна дыхания (Fisk, Wyss, 2000; Bagaev, Aleksandrov, 2006; Thayer, Lane, 2009; Manea et al., 2015), а также модулирует барорефлекс (БР) и инспираторно-тормозящий рефлекс Геринга-Брейера (ИТР), изменяя барорефлекторную чувствительность (БРЧ) и силу ИТР (Cechetto, Saper, 1987; Aleksandrov et al., 2009; Туманова и др., 2021).

Эндотоксинемия, то есть состояние, при котором происходит многократное повышение уровня эндотоксинов, главным образом, бактериального липополисахарида (ЛПС), в плазме крови, может иметь разные причины и различное временное течение (Boutagy et al., 2016; Mohammad, Thiernemann, 2021). Как известно, ЛПС, который является компонентом внешней мембраны клеточной стенки грамотрицательных бактерий, обладает широким спектром видов биологической активности (Raetz, Whitfield, 2002; Bertani, Ruiz, 2018). Повышение системного уровня ЛПС запускает каскад процессов, в которые вовлекаются иммунная, нервная и эндокринная системы (Marketon, Sternberg, 2010; Cheng et al., 2018; Guo, Ting, 2020). В случае системной воспалительной реакции (СВР) эндотоксинемия вызывает острые нарушения работы висцеральных систем, в том числе системы крови, кровообращения и дыхания (Amorim et al., 2020; Beyeler et al., 2020;

Goossens et al., 2022). При СВР наблюдается изменение количества лейкоцитов в системном кровотоке, колебания АД, тахикардия и гипервентиляция. Обращает на себя внимание то обстоятельство, что эффекты эндотоксинемии обычно исследуют в контексте процессов, которые развиваются непосредственно во внутренних органах и тканях, а её влияние на состояние механизмов нервного контроля автономных функций изучены недостаточно.

Взаимодействуя с рецепторами разных типов, расположенными на макрофагах, моноцитах, дендритных клетках и клетках эндотелия сосудов, ЛПС побуждает их к усиленной экспрессии провоспалительных цитокинов, в том числе фактора некроза опухоли альфа (ФНО- $\alpha$ ), интерлейкинов и других (McDonald et al., 2016; Felger, 2018; Amorim et al., 2019). Установлено, что повышение системного уровня провоспалительных цитокинов оказывает негативное влияние на органы системы кровообращения (Zanotti-Cavazzoni, Hollenberg, 2009; Cai et al., 2020), а также приводит к разнообразным нарушениям состояния системы внешнего дыхания (Aleksandrova et al., 2021). Вместе с тем, цитокины, в том числе ФНО- $\alpha$ , могут проникать в центральную нервную систему через циркумвентрикулярные органы, а в структурах, входящих в ЦАС и участвующих в контроле кровообращения и дыхания, обнаружены рецепторы к ФНО- $\alpha$  (Ramseyer, Garvin 2013). Эти данные позволили предположить, что ФНО- $\alpha$ , при повышении его системного уровня вследствие эндотоксинемии, может оказывать влияние на состояние рефлекторных механизмов, регулирующих кровообращение и дыхание.

Актуальной проблемой является вопрос о путях реализации возможного влияния ФНО- $\alpha$ , на механизмы нервного контроля автономных функций. Установлено, что ФНО- $\alpha$  способен стимулировать продукцию простагландинов (ПГ) различными клетками, (Bachwich et al., 1986; Spatz et al., 1993; Nakajima et al., 2022) В свою очередь, ПГ, будучи мелкими молекулами, легко проникают в ткань мозга. Поскольку рецепторы к ПГ E2, который вырабатывается под влиянием ФНО- $\alpha$ , обнаружены во многих структурах ЦАС, в том числе на бульбарном уровне, то можно предположить, что именно ПГ могут быть конечным звеном, реализующим влияние ФНО- $\alpha$  на рефлекторные механизмы, регулирующие дыхание и кровообращение.

Провоспалительные цитокины, которые интенсивно вырабатываются под влиянием ЛПС, вызывают повышение системного уровня глюкокортикоидных гормонов (ГК), что является следствием их активирующего действия на гипоталамо-гипофизарно-адреналовую ось (Hadid et al., 1999; Beishuizen, Thijs, 2003; Marketon, Sternberg, 2010). В свою очередь, ГК, обеспечивающие реализацию адаптивных реакций организма (Bruscoli et al., 2022; de Kloet, 2023), оказывают выраженное действие на системы кровообращения и внешнего дыхания (Adlan et al., 2018; Duchatsch et al., 2018; Schulz et al., 2020).

Многочисленные рецепторы ГК обнаружены в тех структурах головного мозга, которые входят в состав ЦАС и участвуют в рефлекторной регуляции функций дыхания и кровообращения (Ragozzino et al., 2020). Эти данные позволяли предполагать, что повышение уровня ГК, которое является очередным звеном в цепи процессов, вызванных эндотоксинемией, также оказывает влияние на состояние центральных механизмов контроля автономных функций.

**Целью диссертационной работы** стала экспериментальная проверка гипотезы, согласно которой по мере развития реакции организма на повышение системного уровня бактериального ЛПС может происходить нарушение рефлекторных механизмов систем кровообращения и дыхания, а также изменение состояния центральной автономной сети.

#### **Задачи экспериментального исследования**

1. Верифицировать адекватность модели эндотоксинемии, предназначенной для использования в острых экспериментах на животных, анестезированных уретаном. Для этого изучить влияние экзогенного повышения системного уровня ЛПС на количество и состав лейкоцитов крови, а также на параметры систем кровообращения и дыхания анестезированной крысы.

2. Используя верифицированную модель, исследовать влияние экзогенного повышения уровня ЛПС на рефлекторные механизмы систем кровообращения и дыхания и состояние ЦАС.

3. В аналогичных экспериментальных условиях изучить влияние экзогенного повышения системного уровня провоспалительного цитокина ФНО- $\alpha$  на состояние кардиореспираторной системы и её рефлекторные механизмы.

4. Проверить предположение о том, что ФНО- $\alpha$  при повышении его системного уровня может оказывать влияние на состояние систем кровообращения и дыхания, а также на их рефлекторные механизмы путем модуляции синтеза простагландинов.

5. Изучить влияние системного введения кортикостероидного гормона дексаметазона на состояние одного из рефлекторных механизмов кардиореспираторной системы и эффекты электрической микростимуляции висцеральной коры.

#### **Научная новизна**

Впервые в острых экспериментах исследовано влияние экзогенного повышения системного уровня бактериального ЛПС на состояние автономных рефлексов и обнаружено его ослабляющее действие на рефлекторные механизмы, регулирующих уровень артериального давления и состояние объёмно-зависимой обратной связи в системе внешнего дыхания. Получены приоритетные экспериментальные данные о подавлении реакции системы кровообращения на электрическую микростимуляцию висцеральной



коры при экзогенном повышении системного уровня ЛПС, что свидетельствует об изменении состояния ЦАС в условиях эндотоксинемии. Впервые установлено, что повышение системного уровня провоспалительного цитокина ФНО- $\alpha$  изменяет БРЧ и силу ИТР, причём эти эффекты являются следствием активации циклооксигеназного пути синтеза ПГ. Получены приоритетные данные о влиянии ГК дексаметазона на БРЧ и было показано, что этот ГК усиливает БРЧ, не оказывает влияния на депрессорный эффект стимуляции висцеральной коры, но устраняет её модулирующий эффект на БР. Тем самым впервые в опытах на анестезированных животных было получено свидетельство того, что ГК, уровень которых повышается в условиях эндотоксинемии, могут влиять на состояние ЦАС и рефлекторных механизмов висцеральных систем, в частности, системы кровообращения.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Полученные экспериментальные данные доказывают, что повышение системного уровня бактериального ЛПС оказывает влияние на состояние рефлексов, регулирующих работу систем кровообращения и внешнего дыхания, а также на центральную автономную сеть. Эти результаты позволяют сделать вывод о том, что, нарушение центральных нервных механизмов может быть фактором, усугубляющим негативное влияние эндотоксинов на функции висцеральных систем. Тем самым существенно расширяются представления о возможных механизмах, реализующих влияние эндотоксинемии на состояние висцеральных систем. Результаты настоящего исследования подтверждают представления о том, что усиленный синтез простагландинов, вызванный повышением системного уровня провоспалительных цитокинов, в том числе ФНО- $\alpha$ , в условиях эндотоксинемии, приводит к нарушению рефлекторной регуляции кровообращения и дыхания. Кроме того, полученные результаты показывают, что глюкокортикоид дексаметазон, который широко используется для проведения противовоспалительной и иммунодепрессивной терапии, усиливает барорефлекс и одновременно ослабляет модулирующее действие микроэлектростимуляции висцеральной коры на этот рефлекторный механизм. Этот результат имеет двоякое значение, поскольку, с одной стороны, доказывает, что повышение уровня глюкокортикоидов является ещё одним фактором, который может влиять на состояние центральных механизмов автономного контроля при эндотоксинемии. С практической точки зрения его следует учитывать при оценке терапевтической эффективности и побочных эффектов дексаметазона. Таким образом, результаты настоящего исследования существенно расширяют и дополняют современные представления о механизмах взаимодействия регуляторных систем при изменении состава внутренней среды организма. Эти результаты, в особенности касающиеся механизмов

нарушения рефлекторного контроля кардиореспираторной функции и приоритетных экспериментальных данных, относительно центральных эффектов ДМ, следует учитывать при разработке методов терапии заболеваний, вызванных повышением системного уровня эндотоксина, в частности СВР. Полученные результаты следует учитывать при планировании дальнейших исследований в области нейрофизиологии и физиологии висцеральных систем, а также использовать в составлении соответствующих лекционных курсов.

#### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Введение ЛПС крысам, находящимся под уретановой анестезией, вызывает лейкопению, изменения АД, тахикардию и гипервентиляцию, то есть позволяет в условиях острого эксперимента воспроизвести реакции, близкие к симптомам синдрома СВР.

2. Результаты, полученные на верифицированной модели эндотоксинемии, показали, что экзогенное повышение системного уровня ЛПС ослабляет БРЧ и объёмно-зависимую обратную связь в системе внешнего дыхания анестезированной крысы.

3. В экспериментах на той же модели было установлено, что повышение системного уровня ЛПС подавляет депрессорную реакцию системы кровообращения на электрическую микростимуляцию ИЛК, что указывает на изменение состояния ЦАС.

4. Экзогенное повышение системного уровня ФНО- $\alpha$  приводит к изменению параметров систем дыхания и кровообращения, усиливает БР и ослабляет ИТР, а предварительное введение диклофенака устраняет эти эффекты, что доказывает участие ПГ в реализации эффектов ФНО- $\alpha$ .

5. Глюкокортикоид дексаметазон усиливает БР и ослабляет модулирующее действие электрической микростимуляции ИНС на него, что может свидетельствовать о нарушении центрального контроля автономных функций на этапе активации гипоталамо-гипофизарно-адреналовой оси при развитии эффектов эндотоксинемии.

#### **Апробация результатов**

Материалы диссертации были представлены лично её автором на съездах физиологов России и СНГ; на международных конференциях, в том числе дважды за рубежом; а также на других конференциях разного уровня: Международные конгрессы Европейского респираторного общества (The ERS International Congress, London, 2016; The ERS International Congress, Milan, 2017); XXIII и XXIV Съезды физиологического общества им. И.П. Павлова (Воронеж, 2017; Санкт-Петербург, 2023), Санкт Петербургский научный форум, посвященный 100-летию Физиологического общества им. И.П. Павлова (Санкт-Петербург, 2017); Всероссийские конференции с международным участием «Интегративная физиология» (Санкт-Петербург, 2018; 2020); XIII Всероссийская с

международным участием школа-семинар «Экспериментальная и клиническая физиология дыхания» (Санкт-Петербург, 2016); XV, XVII и XVIII Международные междисциплинарные конгрессы "Нейронаука для медицины и психологии" (Судак, 2019; 2021; 2022); Международные молодежные научные форумы студентов, аспирантов и молодых учёных «ЛОМОНОСОВ» (Москва, 2018; 2021); XXIV и XXVI Всероссийские конференции молодых учёных с международным участием «Актуальные проблемы биомедицины» (Санкт-Петербург, 2018; 2020); XXII и XXVII Международные медико-биологические конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина. Человек и его здоровье», (Санкт-Петербург, 2019, 2024); Межвузовские конференции молодых ученых «Герценовские чтения» (Санкт-Петербург, 2016; 2017; 2018); XXI Межвузовская студенческая научная конференция "Студент-Исследователь-Учитель" (Санкт-Петербург, 2019); Всероссийская молодежная школа-конференция «Молекулярные механизмы регуляции физиологических функций» (Звенигород, 2023).

#### **Публикации**

По теме диссертации 6 статей опубликованы в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ и индексируемых в наукометрических базах Scopus, WoS и RSCI. Кроме того, тезисы трёх докладов опубликованы в специальных выпусках журналов, индексируемых в базах Scopus и RSCI. В общей сложности по теме диссертации опубликовано 43 научных работы.

#### **Личный вклад автора**

Автор принимала непосредственное участие в определении цели и постановке задач исследования, планировании и методической подготовке экспериментов, лично проводила эксперименты и обрабатывала экспериментальные данные, готовила публикации и доклады, а также лично представляла полученные результаты на конференциях и съездах.

#### **Структура и объем диссертации**

Диссертация состоит из введения, обзора литературных источников по теме диссертации, описания объекта и методов исследования, четырех глав, содержащих результаты собственных экспериментов и их обсуждения, заключения, выводов и списка использованных литературных источников. Объем диссертации составляет 147 страниц печатного текста, включая 1 таблицу и 33 рисунка. Список цитируемой литературы содержит описание 370 источников, из них 333 опубликованы в международных журналах.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРНЫХ ИСТОЧНИКОВ

### 1.1. Современные концепции нервной регуляции вегетативных функций

#### 1.1.1. Концепция церебровисцеральных осей

В настоящее время процессы взаимодействия ЦНС и висцеральных систем описываются в рамках концепции церебровисцеральных осей, в состав которых включают структуры центральной и периферической нервной системы, внутренние органы с их местными механизмами регуляции, а также симбионтную микрофлору этих органов (Александров, 2019). Согласно современным представлениям, автономные функции контролируются цереброкардиальной, церебропульмонарной и цереброкишечной осями (Buitrago-Ricaurte et al., 2020; Castello-Simões et al., 2021). При этом следует иметь в виду, что центральный отдел всех церебровисцеральных осей объединен и представляет собой «центральную автономную сеть» (Benarroch, 1993). На высших уровнях церебровисцеральных осей располагаются области автономной коры, в т.ч. инфралибическая и инсулярная сенсорно-моторные области (Benarroch, 2019). Эти области могут оказывать модулирующее действие на активность автономной нервной системы (Александров, 2019).

*Цереброкардиальная ось.* Существует сложное взаимодействие между нервной и сердечно-сосудистой системами. Дисфункция в одной системе может привести к изменению функции другой. Влияние сердечно-сосудистых заболеваний на нервную систему широко изучено. Описаны случаи, при которых нарушения работы сердца могут приводить к изменениям функций ЦНС. Например, сердечные заболевания являются важным фактором риска снижения когнитивных функций, а инфаркт миокарда может привести к воспалительным процессам в головном мозге (Xu et al., 2021). И наоборот, различные патологии нервной системы могут привести к широкому спектру изменений в функции и структуре сердечно-сосудистой системы (Tahsili-Fahadan, Geocadin, 2017). Например, различные типы сердечных осложнений часто описываются у пациентов с инсультом (Xu et al., 2020). Цереброкардиальная ось характеризуется двунаправленным потоком информации и может модулировать работу других органов, например, легких (Mrozek et al., 2020). Как известно, многие области ЦНС могут играть важную роль в модуляции сердечной функции, например, медиальная префронтальная, передняя поясная и инсулярная кора, орбитофронтальная кора, миндалина, парабрахиальное ядро, гипоталамус, гиппокамп, центральное серое вещество и некоторые области продолговатого мозга (Manea et al., 2015; Lionetti et al., 2021). Данные структуры входят в состав цереброкардиальной оси, участвуя в регуляции сердечной деятельности посредством модуляции активности симпатического и парасимпатического отделов вегетативной

нервной системы, влияя на артериальное давление, частоту сердечных сокращений и силу артериального барорефлекса (Александров и др., 2021). Эти структуры воспринимают и обрабатывают массив афферентной сомато-висцеральной информации от сердечно-сосудистой системы, тем самым иницируя интегрированный паттерн эндокринных, вегетативных и поведенческих реакций на эмоционально значимые или стрессовые стимулы (Lionetti et al., 2021).

*Церебропульмонарная ось.* В состав церебропульмонарной оси входят бульбарный дыхательный центр, варолиев мост, ядро солитарного тракта (ЯСТ), парабрахиальное ядро, двойное ядро, гипоталамус, кора больших полушарий и некоторые другие области ЦНС. Установлено существование тесной взаимосвязи между повреждением ЦНС (например, при черепно-мозговой травме, инфекции и субарахноидальном кровоизлиянии) и развивающимся одновременного с этим повреждением легких, которое может еще больше ухудшить клинические исходы. Местное воспаление головного мозга быстро распространяется на легкие. И наоборот: хорошо переносимая здоровым мозгом, нарушенная дыхательная функция может еще больше ухудшить состояние «больного» мозга (Abdennou et al., 2012). Становится все более очевидным, что легкие и головной мозг представляют собой единый физиологический ансамбль и повреждения, затрагивающие один из этих органов, поставят под угрозу другой. Предположительно, такие эффекты опосредованы сложной сетью передачи сигналов с участием нервных, воспалительных, иммунологических и нейроэндокринных путей (Stevens, Puybasset, 2011). По данным Witzernath, Kuebler (2021) искусственная вентиляция легких может приводить к травме головного мозга посредством прямого или опосредованного действия вырабатываемых организмом провоспалительных цитокинов на клетки нервной системы. Вместе с тем, активно изучается влияние легочной микробиоты на работу нервной системы. Предположительно существует связь между микробиотой, заселяющей легкие и развитием нейродегенеративных расстройств и поведенческими изменениями (Bajinka et al., 2021).

*Цереброкишечная ось.* Похожие исследования проводились с целью изучения влияния кишечной микробиоты на развитие психических и неврологических расстройств (Dovrolis et al., 2019; Tan et al., 2022), нейродегенеративных заболеваний (Sun, Shen, 2018) и на деятельность головного мозга в целом (Халтурина и др., 2021). Взаимосвязь между ЦНС и ЖКТ двусторонняя и регулируется на нервном, гормональном и иммунологическом уровнях. Нарушенная барьерная функция может изменить проницаемость кишечника, в результате чего вредные вещества и патогены легко проходят через эпителиальный барьер, оказывая тем самым неблагоприятные влияния на другие органы. Известно, что микробиота кишечника может модулировать функцию таких органов как мозг, печень, легкие и др.

(Diao et al., 2021). Важную роль в этом процесс играют про- и противовоспалительные цитокины, обладающие способностью действовать на нервные структуры цереброкишечной оси вызывая изменения в регуляции системы «мозг-кишечник» (Халтурина и др., 2021).

### ***1.1.2. Концепция центральной автономной сети***

Согласно данной концепции, активность висцеральных систем контролируется центральной автономной сетью (Benarroch, 1993, Smith et al., 2017). Эта сеть представляет собой сложную систему, образованную структурами, расположенными на разных уровнях нервной оси, от спинного мозга до коры больших полушарий (рис. 1.1). В отличие от концепции церебровисцеральных осей в состав центральной автономной сети не включают исполнительные органы и их микробиота. Вместе с тем эти концепции не противоречат друг другу, их применение определяется целью исследования. По сути, центральная автономная сеть объединяет центральные отделы всех церебровисцеральных осей.

Структуры центральной автономной сети связаны многочисленными прямыми и обратными связями. Принадлежность той или иной структуры к центральной автономной сети определяется соответствием ряду критериев (Александров и др., 2021). Прежде всего воздействие на эту область должно вызывать изменения параметров висцеральных систем. С другой стороны, при активации афферентов висцеральных систем должна быть зафиксирована активность нейронов данной области. Для центральной автономной сети характерны следующие свойства (по Benarroch, 1993). Все компоненты ЦАС связаны между собой сложными системами проводящих путей и непрерывно взаимодействуют при регуляции вегетативных реакций и обеспечении обратной связи. Проводящие пути ЦАС имеют параллельную организацию. Центральная вегетативная регуляция зависит от активности сразу нескольких параллельных путей, а не только от конкретных вегетативных центров. Например, сердечно-сосудистые и другие вегетативные реакции, связанные с эмоциональными состояниями, могут включать параллельные пути от миндалевидного комплекса и центрального околотоводопроводного серого вещества мозга к премоторным нейронам вентролатерального продолговатого мозга без переключения в гипоталамусе. Регуляция вегетативных функций центральной автономной сетью осуществляется за счет взаимодействия между собой компонентов этой сети. Это взаимодействие обеспечивается наличием прямых и опосредованных связей. Влияние на один из компонентов центральной автономной сети может незамедлительно вызвать изменение работы всей сети.

ЦАС имеет симпатические и парасимпатические выходы. В грудном и поясничном сегментах спинного мозга (T1-L2) располагаются симпатические преганглионарные нейроны - выходы из центральной автономной сети. Эти нейроны иннервируются

вышележащими структурами головного мозга и имеют решающее значение в поддержании артериального давления, терморегуляции и перераспределении регионарного кровотока во время стресса и физической нагрузки (Benarroch, 2012). Парасимпатические выходы из ЦАС представлены эфферентами блуждающего нерва, отходящими от дорсального моторного ядра блуждающего нерва и двойного ядра. Эти выходы регулируют работу желудочно-кишечного тракта, дыхательной и сердечно-сосудистой системы.

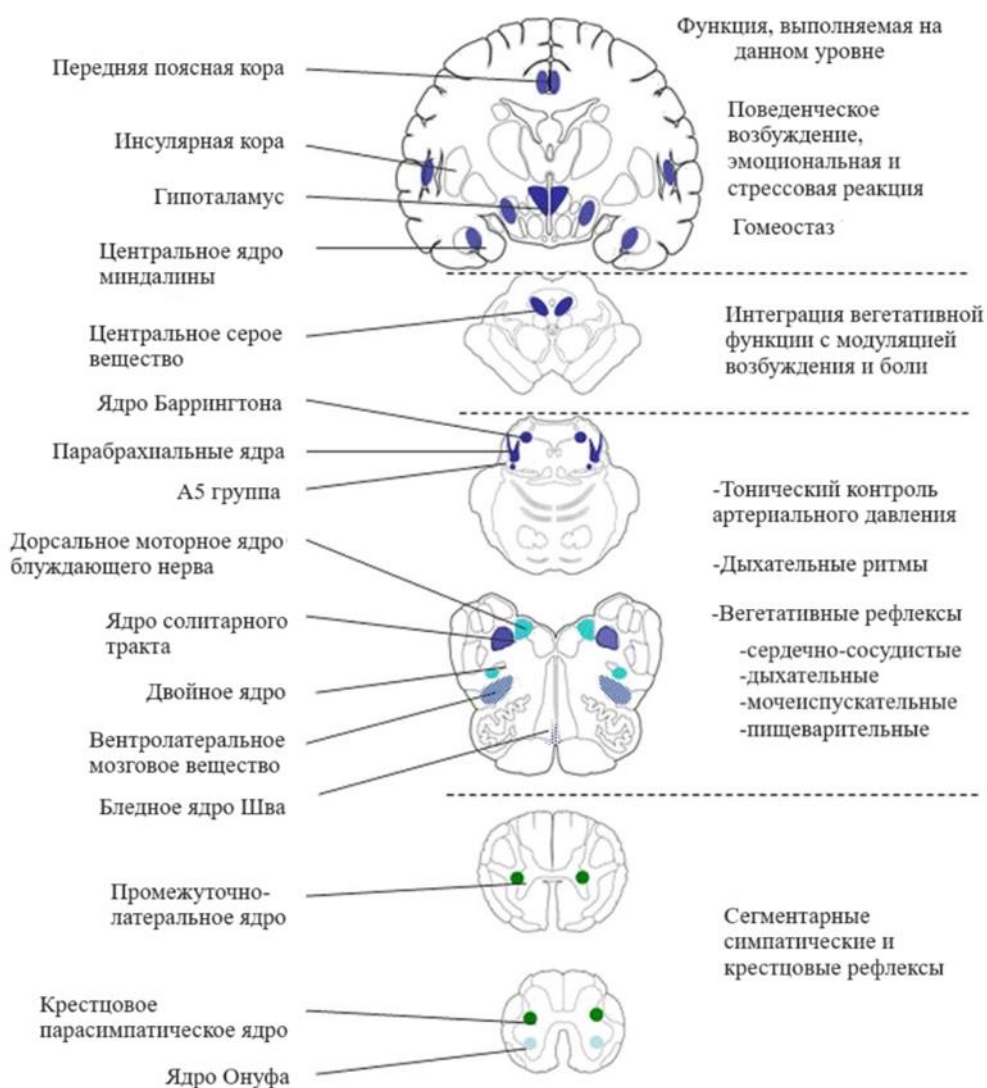


Рис. 1.1. Области центрального автономного контроля и уровни их взаимодействия (адаптировано из Benarroch, 2012)

Области ствола мозга, контролирующие вегетативную деятельность, включают следующие структуры: ядро солитарного тракта, двойное ядро, околородопроводное центральное серое вещество среднего мозга, парабрахиальное ядро, ростральное вентролатеральное мозговое вещество и каудальное вентролатеральное мозговое вещество продолговатого мозга, ядра шва, дорсальное моторное ядро блуждающего нерва (DMN) (Benarroch, 2012; Sklerov et al., 2019; Buitrago-Ricaurte et al., 2020).

Ядро солитарного тракта является основным интегративным центром сердечно-сосудистого, желудочно-кишечного, дыхательного контроля и регулятором других вегетативных функций в центральной нервной системе. Располагается в дорсальной части продолговатого мозга и имеет несколько субъядер с висцеротропной организацией. В ростральную часть ядра солитарного тракта поступает афферентная импульсация от вкусовых и соматических афферентов, промежуточная часть - получает желудочно-кишечную афферентацию, а каудальная часть принимает висцеральные афференты от сердечно-сосудистой, пищеварительной, дыхательной и почечной систем (от барорецепторов, хеморецепторов и от легочных рецепторов) (Tseng et al., 2012; Bai et al., 2019; Gasparini et al., 2020). Эта область является местом, где располагается первый синапс барорецепторного рефлекса. Ядро солитарного тракта проецируется непосредственно на такие области головного мозга, как парабрахияльное ядро, двигательные ядра нескольких черепных нервов, ретикулярная формация, ядра Шва, спинной мозг, дорсальное моторное ядро блуждающего нерва, гипоталамус и некоторые лимбические структуры. Кроме того, к ядру солитарного тракта были выявлены прямые проекции от коры головного мозга (Travagli et al., 2006; Roy, Green, 2019; Gasparini et al., 2020).

Центральное серое вещество играет важную роль в вегетативных и соматических реакциях на стресс. Оно участвует в нисходящей модуляции боли, в развитии эмоций страха, тревоги и обеспечивает поведение, направленное на избегание опасностей. Центральное серое вещество участвует также в сердечно-сосудистых реакциях, контроле дыхания и мочеиспускания (Behbehani, 1995; Benarroch, 2012; Coulombe et al., 2016). Установлены связи центрального серого вещества с миндалиной, таламусом и некоторыми областями коры больших полушарий (височные области, премоторная и передняя поясная кора) (Kong et al., 2010; Coulombe et al., 2016).

Парабрахияльное ядро оказывает влияние на дыхание, обеспечивает сердечно-сосудистый контроль, терморегуляцию, реакции жажды и голода, играет важную роль в восприятии боли, а также содержит нейроны, реагирующие на пять основных вкусов (Grady et al., 2020; Deng et al., 2020; Jarvie et al., 2021). Передает сенсорную информацию (висцеральное недомогание, вкус, температура, боль, зуд) в структуры переднего мозга, включая таламус, гипоталамус и миндалину (Palmiter, 2018). Также парабрахияльное ядро имеет связи с ядром солитарного тракта, островковой и передней поясной корой (Grady et al., 2020; Jarvie et al., 2021).

Ростральное вентролатеральное мозговое вещество продолговатого мозга (*rostral ventrolateral medulla*, RVLМ) является ключевой областью регуляции артериального давления, опосредует все рефлексы, контролирующие артериальное давление, включая



барорефлекс, сердечно-легочные рефлексy и хеморефлексy, а также получает несколько входных сигналов от гипоталамуса (Koganezawa et al., 2008; Benarroch, 2012). Каудальное вентролатеральное мозговое вещество продолговатого мозга (*caudal ventrolateral medulla*, CVLM) содержит ГАМК-ергические нейроны, которые поддерживают тонический тормозной контроль RVLM и передают тормозные входы от ЯСТ, являясь таким образом компонентом рефлекторной дуги артериального барорефлекса. В CVLM также располагается группа нейронов, которые обеспечивают норадренергическую иннервацию гипоталамуса (Benarroch, 2012).

Высшими центрами ЦАС являются корковые зоны, в состав которых входят инсулярная, инфраламбическая и орбитофронтальная области коры больших полушарий, участвующие в контроле автономных функций (Buitrago-Ricaurte et al., 2020; Aleksandrov et al., 2021). Эти области тесно взаимосвязаны как друг с другом, так и с гипоталамусом, центральном околоводопроводным сером веществом, парабрахияльной областью, ядром солитарного тракта и другими нижележащими областями. Кроме того, структуры, которые как считалось ранее, играют неопределенную роль в ЦАС, такие как медиальная префронтальная кора, таламус, гиппокамп и мозжечок, в настоящее время определены как области центральной автономной сети, обеспечивающие важные реакции вегетативной нервной системы (Shoemaker, 2015; Oppenheimer, Cechetto, 2016; Sklerov et al., 2019; Roy, Green, 2019).

### ***1.1.3. Иерархическая модель нейровисцеральной интеграции***

К настоящему времени достигнут значительный прогресс в понимании основных принципов нейровисцеральной интеграции. Предложена восьмиуровневая иерархическая модель центрального контроля автономных функций, которая базируется на центральной автономной сети, предложенной Benarroch, и расширяет ее (Thayer, Lane, 2009; Thayer et al., 2012; Smith et al., 2017).

Каждый из иерархических уровней, описанных авторами, участвует в управлении блуждающим нервом. Фундаментальный принцип организации модели нейровисцеральной интеграции, заключается в том, что новые типы информации интегрируются на каждом уровне, и в результате каждый уровень более гибко задействован для изменения тонуса блуждающего нерва, чем уровень ниже. Следовательно, самые высокие (наиболее гибкие) уровни будут играть гораздо более заметную роль в регуляции работы блуждающего нерва по сравнению с другими уровнями.

Выделяют следующие уровни иерархической модели нейровисцеральной интеграции (по Smith et al., 2017):

Уровень 1 – внутрисердечный контроль за счет внутренних нейронов сердечных ганглиев. Эти внутренние ганглии считаются сложными структурами, которые способны реагировать на химические, механические и электрофизиологические стимулы.

Уровень 2 – скоординированный сердечно-сосудистый контроль. Основным примером этого уровня является артериальный барорефлекс, который координирует сердечный выброс с артериальным давлением и поддерживает оптимальное АД в организме. Барорефлекс в значительной степени находится под парасимпатическим контролем и регулируется работой двойного ядра, дорсального моторного ядра блуждающего нерва и ЯСТ ствола мозга.

Уровень 3 – скоординированный межорганный системный контроль. Этот уровень включает те же ядра ствола мозга, как и уровень 2. Однако, помимо обеспечения гомеостатической и рефлекторной регуляции одной определенной системы органов, эти области также ответственны за координацию и регуляцию между различными системами. Так, в отличие от уровня 2, в ЯСТ афференты рефлекторной дуги барорефлекса, используются для запуска скоординированных изменений в других системах, например, для изменения дыхания.

Уровень 4 – скоординированный скелетно-моторный, висцерально-моторный и эндокринный контроль. Этот уровень контроля в ЦАС включает группы нейронов гипоталамуса и центрального серого вещества, которые имеют двойные связи с ядрами ствола мозга. Поскольку гипоталамус имеет множественные связи со многими структурами ЦНС, он способен запускать скоординированные вегетативные, эндокринные и поведенческие реакции, связанные с такими явлениями, как терморегуляция, голод, жажда, половое влечение, агрессия и сон.

Уровень 5 – скоординированный контроль управляемых стимулом соматических, висцеральных и когнитивных реакций/реакций внимания. Ключевыми структурами, оказывающими влияние на работу блуждающего нерва на данном уровне, являются миндалевидное тело и некоторые области переднего мозга. Миндалины имеют влияние на широкий спектр подкорковых областей, включая ядра гипоталамуса, центральное серое вещество и ядра ствола мозга, а также на структуры коры больших полушарий. Считается, что вышеупомянутые связи позволяют миндалине инициировать специфические скоординированные вегетативные/поведенческие действия, связанные с эмоциональными реакциями.

Уровень 6 – регуляция, основанная на перцептивной репрезентации текущего соматического/внутреннего состояния. Этот уровень включает корковые области (области островка, орбитофронтальной коры, передней поясной извилины и др.) и отвечает за

восприятие текущего висцерального и соматического состояния. Инсулярная кора содержит сенсорно-моторные представительства ряда автономных систем и в то же время является одной из самых многофункциональных областей коры. Эта область коры головного мозга формирует представление о внутреннем состоянии тела и участвует в широком спектре перцептивных, когнитивных и эмоциональных задач. Передняя поясная кора, как и кора островка, содержит сенсорно-моторное представительство автономных систем. Кроме того, эта область связана с функцией представления состояния тела, а также с функцией выбора произвольного действия или эмоции. Орбитофронтальная кора в качестве элемента орбитальной сети получает и интегрирует сенсорную информацию, а и как элемент медиальной сети связана с передней поясной корой, медиальной префронтальной корой и гипоталамусом. Через гипоталамус он управляет выходами центральной автономной сети, модулируя их в соответствии с концептуальным пониманием текущего сенсорного входа.

Уровень 7 – регуляция, основанная на осмыслении сенсорной информации и прошлого опыта. Этот уровень включает регуляцию вегетативной нервной системы (и связанных с ней подкорковых ядер) высшими областями коры. Базируется на концептуальных исходных данных и прошлом опыте, формируется полями, включенными в сеть «режима по умолчанию», в т.ч. медиальной префронтальной и поясной корой.

Уровень 8 – усиление, поддержание или подавление представлений на основе текущих целей. Уровень образован областями коры головного мозга, которые являются частью «исполнительной управляющей сети». Эта сеть позволяет произвольно сохранять информацию в рабочей памяти.

Иерархическая модель нейровисцеральной интеграции является примером нового алгоритма научного познания в области нейрофизиологии висцеральных систем. Она предполагает, что при изучении механизмов коркового контроля автономных функций следует опираться не на изучение автономных функций определенных областей коры, а скорее на свойства сетей, включающих эти области.

Актуальной проблемой современной физиологии является выяснение механизмов нейроиммунного взаимодействия. Большой интерес представляет изменение работы рефлекторных механизмов церебровисцеральной оси и закономерностей функционирования центральной автономной сети при измененном состоянии иммунной системы, в частности в условиях эндотоксинемии.

## 1.2. Центральный контроль кровообращения и дыхания

### 1.2.1. Структурно-функциональная организация нервной регуляции кровообращения

В нервной регуляции кровообращения участвуют бульбарный сосудодвигательный центр, супрабульбарные отделы ЦНС, симпатические и парасимпатические волокна вегетативной нервной системы. Важнейшим нервным центром, обеспечивающим регуляцию артериального давления и поддержание сосудистого тонуса, является сосудодвигательный центр, расположенный в продолговатом мозге на дне ромбовидной ямки. Расположение сосудодвигательного центра было впервые установлено русским физиологом В. Ф. Овсянниковым (1870-1871 гг.) в результате экспериментов на животных с поперечными перерезками ствола головного мозга на разных уровнях. Сосудодвигательный центр является парным образованием, состоящим из двух функционально различных областей - прессорной и депрессорной. Возбуждение нейронов прессорной области вызывает увеличение артериального давления вследствие повышения тонуса сосудов и уменьшения их просвета. Возбуждение нейронов депрессорной зоны напротив снижает величину артериального давления, вызывая ослабление тонуса сосудов и увеличение их просвета. Вместе с тем, деление на зоны является в определенной степени условным, так как зоны значительно перекрываются и в одной и той же зоне могут быть обнаружены как прессорные, так и депрессорные нейроны.

К нейронам сосудодвигательного центра постоянно поступают нервные импульсы от рецепторов, расположенных в сердце и рефлексогенных зонах сосудистого русла, что поддерживает их в тоническом состоянии. Рефлексогенными зонами сосудистой системы являются область дуги аорты, каротидные синусы, коронарные сосуды, рецепторная зона правого предсердия, сосуды малого круга кровообращения, брюшной полости.

От нейронов сосудодвигательного центра нервные импульсы передаются на нейроны симпатической нервной системы, расположенные в боковых рогах спинного мозга. Затем по симпатическим нервам возбуждение передается на гладкие мышцы артерий и артериол обеспечивая наличие постоянного сосудистого тонуса. Самостоятельного значения в регуляции кровообращения вазомоторные центры спинного мозга не имеют.

*Супрабульбарные отделы головного мозга* не участвуют в прямой тонической регуляции кровообращения. Бульбарный сосудодвигательный центр продолговатого мозга регулирует основные параметры системной гемодинамики, даже после перерезки связей с вышележащими нервными структурами. Вместе с тем, они оказывают исходящие модулирующие влияния на возбудимость сосудодвигательного центра. К таким отделам относится гипоталамус, таламус, структуры лимбической системы, кора головного мозга.

Области гипоталамуса рассматривают как сосредоточение высших подкорковых центров, регулирующих функции различных отделов автономной нервной системы и оказывающих нисходящее влияние в том числе на сосудодвигательный центр продолговатого мозга (Moreira et al., 2011). В гипоталамусе различают депрессорные и прессорные зоны. Раздражение этих областей вызывает соответствующие ответы кровяного давления (Zhou et al., 2019). Стимуляция задних и заднебоковых областей гипоталамуса вызывает изменения частоты сердечных сокращений. Центры, расположенные в гипоталамусе, также участвуют в изменении работы сердца при изменении температуры тела. Под влиянием лимбической системы в сердечно-сосудистой системе происходят изменения при волнении, тревоге и других эмоциональных состояниях. Стимуляция средних, вентральных и медиальных ядер таламуса приводит к тахикардии. Кортикальный контроль также участвует в регуляции сердечно-сосудистой функции. Регуляторные центры расположены, преимущественно, в передних отделах головного мозга: в основном, в лобных долях, орбитофронтальной, двигательной и премоторной зонах коры мозга, передней части височных долей, островке и поясной извилине.

### ***1.2.2. Рефлекторные механизмы регуляции кровообращения***

Рефлекторные механизмы регуляции работы сердечно-сосудистой системы разделяют на собственные и сопряженные рефлексы. Рефлекторные изменения артериального давления, вызванные возбуждением рецепторов сосудистых рефлексогенных зон, классифицируют как собственные рефлексы сердечно-сосудистой системы, тогда как изменения артериального давления, обусловленные возбуждением рецепторов, не локализованных в сердечнососудистой системе, относят к сопряженным рефлексам. Сопряженные рефлексы возникают при возбуждении болевых и температурных рецепторов, проприорецепторов мышц и т.п.

Основным механизмом нервной регуляции артериального давления и частоты сердечных сокращений является барорефлекс, ответственный за поддержание артериального давления в относительно узком диапазоне колебаний (Lavanga et al., 2017). При повышении артериального давления в организме запускается барорефлекторная реакция, вызывающая противоположное изменения частоты сердечных сокращений. В реализации барорефлекса участвуют аортальные и синокаротидные механорецепторы. Раздражителем механорецепторов является их растяжение, которое наблюдается при изменении кровяного давления. Механорецепторы обладают высокой чувствительностью к колебаниям давления и возбуждаются при изменении давления на 1 - 2 мм рт. ст.

Рецепторная зона дуги аорты представлена чувствительными нервными окончаниями депрессорного нерва, являющегося веточкой блуждающего нерва. В области

каротидных синусов располагаются механорецепторы, от которых берет начало синусный нерв (нерв Геринга), который имеет анатомические связи с языкоглоточным и симпатическим нервами.

При повышении артериального давления в сосудистой системе возбуждаются механорецепторы аортальной и синокаротидной областей. Нервные импульсы, идущие от рецепторов по депрессорному нерву и блуждающим нервам в продолговатый мозг, вызывают снижение активности нейронов прессорной зоны сосудодвигательного центра, что приводит к увеличению просвета сосудов и снижению артериального давления. Одновременно увеличивается активность ядер блуждающих нервов, что приводит к ослаблению силы и уменьшению частоты сердечных сокращений. При уменьшении артериального давления наблюдаются противоположные изменения. Таким образом, в реализации артериального барорефлекса участвуют барорецепторы, центральные компоненты, расположенные в стволе мозга и вегетативные симпатические и парасимпатические эфференты (Castania et al., 2019). При повышении артериального давления начальное рефлекторное замедление работы сердца вызвано в первую очередь повышением активности сердечного блуждающего нерва. При снижении артериального давления барорефлекс-обусловленная тахикардия вызывается в основном снижением парасимпатического влияния и увеличением симпатической нервной активности (Dergacheva et al., 2010). От барорецепторов отходят нервные волокна языкоглоточного нерва и нерва Геринга. Импульсы поступают в продолговатый мозг к ядру солитарного тракта и ядру блуждающего нерва (Dergacheva et al., 2010). Активация преганглионарных нейронов дорсального моторного ядра блуждающего нерва усиливает тормозное влияние этого нерва на частоту сердечных сокращений. Вместе с тем в ответ вовлекаются ГАМК-ергические интернейроны ядра солитарного тракта, которые оказывают тормозное влияние на сосудодвигательный центр (Lozić et al., 2018; Жилиев и др., 2019). Парасимпатическая активность модулируется в двойном ядре и дорсальном моторном ядре блуждающего нерва (Robertson et al., 2012). Перечисленное приводит к снижению тонуса симпатических кардиостимулирующих нервов и уменьшению частоты сердечных сокращений. Таким образом, барорефлекс по механизму обратной связи осуществляет стабилизацию артериального давления. Ранее считалось, что каротидные барорецепторы отвечают за кратковременную регуляцию артериального давления (от секунд до минут), однако существуют данные о роли барорецепторов в долгосрочной регуляции среднего артериального давления (не менее семи дней) (Thrasher, 2006; Robertson et al., 2012).

Как у животных, так и у людей барорецепторные и хеморецепторные рефлексы ингибируются во время вдоха и облегчаются во время выдоха. Известно, что дыхательная

система влияет на сердечно-сосудистые рефлексы, модулируя входы барорецепторов и хеморецепторов в сердечные вагусные нейроны (Dergacheva et al., 2010).

### ***1.2.3. Структурно-функциональная организация нервной регуляции дыхания***

Основным звеном центральной регуляции дыхания является дыхательный центр, расположенный в продолговатом мозге. Разрушение бульбарного дыхательного центра вызывает необратимую остановку самостоятельного дыхания. Более широкие понятия, такие как «центральный дыхательный механизм» или «бульбо-понтинный дыхательный механизм», которые нередко используются в современной литературе, учитывают участие в обеспечении полноценного дыхания различных супрабульбарных структур, что объясняется не наличием в них отдельных «дыхательных центров», а существованием функциональных связей супрабульбарных структур с единственным дыхательным центром, расположенным в продолговатом мозге (Меркулова и др., 2007).

Дыхательный центр имеет сложную структурно-функциональную организацию и представляет собой совокупность дыхательных нейронов, активность которых синхронизирована с фазами дыхательного цикла (Сафонов и др., 1980; Bianchi et al., 1995). В зависимости от паттерна их активности дыхательные нейроны подразделяются на шесть основных типов: ранние инспираторные, инспираторные с нарастающим паттерном активности, поздние инспираторные, постинспираторные, экспираторные с нарастающим паттерном активности, преинспираторные (Bianchi et al., 1995). Благодаря ритмической активности дыхательных нейронов осуществляются координированные сокращения дыхательных мышц, обеспечивающие вентиляционную функцию легких.

Нейроны бульбарного дыхательного центра расположены в вентролатеральном отделе ядра солитарного тракта (дорсальная дыхательная группа, ДРГ) и в области параамбигуального и ретроамбигуального ядер (вентральная респираторная группа, ВРГ) (рис. 1.2). В вентральной дыхательной группе выделяют ростральную (инспираторную) и каудальную (экспираторную) части. В наиболее ростральной части вентральной дыхательной группы локализованы комплекс пре-Бетцингера и комплекс Бетцингера (Bot.C) (см. обзор: Long, Duffin, 1986).

Скопление дыхательных нейронов обнаружено также в латеральном центральном сером веществе первого и второго шейного сегментов C1-C2, которое рассматривается как каудальное продолжением вентральной респираторной группы (Aoki et al., 1980). Эта группа содержит в основном инспираторные нейроны, которые проецируются главным образом на диафрагмальный мотонейронный пул на ипсилатеральной стороне.

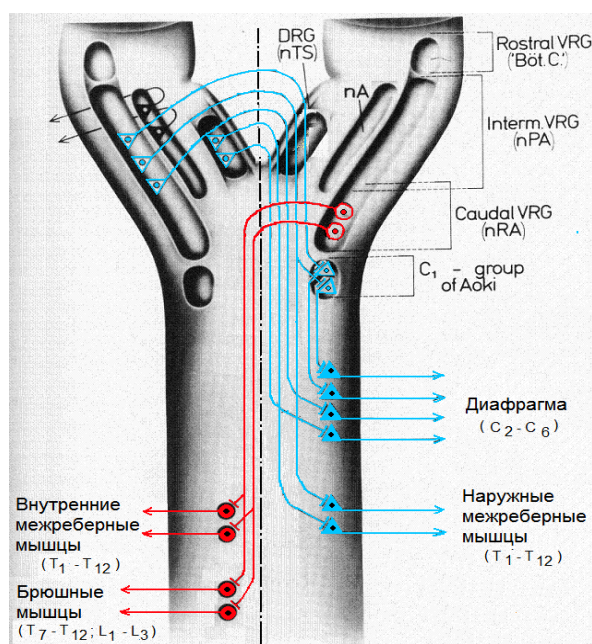


Рис. 1.2. Схема расположения нейронов дорсальной и вентральной респираторных групп дыхательного центра продолговатого мозга (Long, Duffin, 1986; с изменениями).

Дорсальная респираторная группа, расположенная в ядре солитарного тракта, состоит преимущественно из инспираторных нейронов. Ядро солитарного тракта является сенсорным ядром для блуждающего и языкоглоточного нервов, которые передают в дыхательный центр афферентные сигналы от периферических хеморецепторов, барорецепторов и разного типа рецепторов легких (Pérez-Atencio et al., 2021). Различают несколько пулов инспираторных нейронов.  $\alpha$ -инспираторные нейроны, получающие активирующую хеморецепторную афферентацию и тормозящиеся при раздувании легких. Аксоны  $\alpha$ -инспираторных нейронов контактируют моносинаптически с мотонейронами инспираторных мышц, иннервируя диафрагму, парастернальные и наружные межреберные мышцы.  $\beta$ -инспираторные нейроны и Р-клетки (Pump-нейроны), получающие возбуждающую афферентную импульсацию от рецепторов растяжения легких и активирующиеся при раздувании легких. В отличие от  $\beta$ -инспираторных нейронов уровень активности Р-клеток определяется только объемом легких, так как они не получают возбуждающие импульсы от  $\alpha$ -инспираторных нейронов (Kubin et al., 2006). Р-клетки и  $\beta$ -инспираторные нейроны участвуют в реализации рефлексов Геринга-Брейера.

Вентральная дыхательная группа разделяется на три различные в структурно-функциональном отношении части. Каудальная часть содержит только экспираторные нейроны, которые контактируют моносинаптически с экспираторными мотонейронами грудных и поясничных отделов спинного мозга, обеспечивая управление экспираторными мышцами - внутренними межреберными и мышцами брюшного пресса.



В ростральной части вентральной дыхательной группы расположен комплекс Бетцингера, локализованный в области ретрофациального ядра, описывающийся как область генерации дыхательного ритма и имеющий нейроны с потенциал-зависимыми пейсмекерными свойствами, генерирующие ритмические залпы активности в условиях блокады синаптической передачи (Lindsey et al., 2012). Экспираторные нейроны этой популяции имеют синаптические контакты с инспираторными нейронами дорсальной респираторной группы и с инспираторными и экспираторными премоторными нейронами вентральной респираторной группы.

Каудальнее ретрофациального ядра расположен комплекс пре-Бетцингера, имеющий в своем составе тормозные нейроны (модулируют активность сердечных парасимпатических нейронов) и возбуждающие нейроны (генераторы инспираторного ритма, модулируют активность симпатических сосудодвигательных нейронов, обеспечивая колебания артериального давления в фазе с дыханием) (Koizumi et al., 2013; Menuet et al., 2020;). В комплексе пре-Бетцингера также обнаружены нейроны с пейсмекерными свойствами, генерирующие ритмичные залпы активности в условиях полной синаптической блокады. Удаление комплекса пре-Бетцингера приводит к прекращению генерации дыхательного ритма *in vitro* (Smith et al., 1991). Комплекс пре-Бетцингера имеет связи с гипоталамусом, миндалевидным телом, таламусом, корой и областью околосредного центрального серого вещества среднего мозга (Bordoni et al., 2018).

Наряду с бульбарным дыхательным центром важную роль в реляции дыхания играют нейронные структуры варолиевого моста. Область варолиевого моста в которой обнаружены дыхательные нейроны, т.е. нейроны, активность которых синхронна с дыхательными фазами, названа пневмотаксическим центром. Нейроны понтинной группы расположены в парабрахсиальных ядрах и ядрах Келликера-Фузе. В состав понтинной дыхательной группы входят инспираторные, экспираторные и постинспираторные нейроны. Понтинные структуры имеют многочисленные афферентные и эфферентные связи с нейронами бульбарного дыхательного центра и активно участвуют в модуляции паттерна дыхания, контролируя скорость и глубину дыхания, участвуя в механизмах переключения дыхательных фаз и реализации важнейших дыхательных рефлексов. Разрушение ростральной части моста или его удаление приводит к появлению патологических типов дыхания (апнейзисы, гаспинг). При усилении активности пневмотаксической области дыхание учащается (Tortora, Derrickson, 2009). Ядро Келликера-Фузе проецируется на большинство основных дыхательных ядер в стволе головного мозга и на ряд черепных нервов, например, на блуждающий и подъязычный

нервы (Varga et al., 2021). Эти проекции важны для скоординированного взаимодействия процессов дыхания с глотанием, кашлем и речью.

В регуляции дыхания принимают участие и другие супрабульбарные структуры. Мозжечок участвует в обеспечении взаимосвязи между дыхательным центром и двигательной активностью. Гипоталамус координирует дыхание при реализации различных поведенческих актов (поиск пищи, воды и др.), а также усиливает работу дыхательного центра при повышении температуры тела. Известно, что паравентрикулярное ядро гипоталамуса имеет проекции непосредственно на ядро солитарного тракта (Zhou et al., 2019). Посредством лимбической системы осуществляется взаимосвязь между дыханием и различными эмоциональными состояниями. Кора больших полушарий дает возможность произвольного контроля дыхания - изменение частоты и глубины дыхания, остановка дыхания на ограниченное время, координация дыхания и речи. Медиальная префронтальная кора, определяемая как висцеральная моторная кора, участвует в изменении дыхательных, метаболических и сердечно-сосудистых функций (Hassan et al., 2013). Электростимуляция областей медиальной префронтальной коры оказывает модулирующее действие на дыхательные рефлексy (Aleksandrov et al., 2021).

Особого внимания привлекает тот факт, что распределение нейронов, осуществляющих сердечно-сосудистый и дыхательный контроль, имеет схожий характер. В центральной регуляции функций этих двух систем участвуют одни и те же области ЦНС. Это анатомическое свидетельство предполагает, что сердечно-сосудистая и дыхательная системы имеют некоторые взаимодействия на различных уровнях ЦНС. Можно предполагать, что среди причин расстройств систем дыхания и кровообращения при измененных состояниях, в том числе при эндотоксинемии, могут быть изменения в работе рефлекторных механизмов, регулирующих работу этих систем.

#### ***1.2.4. Рефлекторные механизмы регуляции дыхания***

В рефлекторной регуляции дыхания выделяют хеморецепторный и механорецепторный контуры регуляции.

*Хеморецепторы.* В хеморецепторной регуляции дыхания участвуют центральные (медулярные) и периферические (каротидные) хеморецепторы, стимуляция которых при изменении газового состава крови усиливает инспираторную активность дыхательного центра. Центральные хеморецепторы расположены на вентральной поверхности продолговатого мозга, в месте выхода из ствола мозга корешков подъязычного нерва. Их роль выполняют нервные клетки, лежащие в непосредственной близости от микрососудов головного мозга и чувствительные к изменениям концентрации  $H^+$  в межклеточной жидкости. Электрическая активность мультиполярных хемочувствительных нейронов

изменяется при минимальных сдвигах рН внеклеточной жидкости мозга (менее чем на 0,01). Медулярные хеморецепторы играют основную роль в реакциях респираторной системы на гиперкапнию и ацидоз.

Периферические (артериальные) хеморецепторы располагаются в стенке дуги аорты и в синокаротидной зоне, в области бифуркации сонных артерий. По своей основной функции они являются сенсорами недостатка кислорода, реагирующими на снижение напряжения кислорода в артериальной крови. Каротидное тельце представляет собой инкапсулированное образование, имеющее сложную капиллярную структуру. В пространстве между капиллярами находятся хеморецепторные клетки, которые образуют синапсы с афферентными волокнами синусного нерва (нерв Геринга), ветвью языкоглоточного нерва. При снижении напряжения кислорода в артериальной крови афферентная активность синусного нерва резко увеличивается.

Во второй хеморецепторной зоне артериального русла, в дуге аорты, находятся аортальные тельца. Они иннервируются аортальным нервом (нерв Циона, ветви блуждающего нерва), активируются при снижении напряжения кислорода в крови и практически не реагируют на гиперкапнию и ацидоз. Их роль в регуляции легочной вентиляции человека незначительна.

*Механизм хеморецепторной регуляции дыхания.* Афферентная импульсация, поступающая в дыхательный центр от хеморецепторов, необходима для поддержания центральной инспираторной активности. При усилении хеморецепторного драйва происходит как углубление, так и учащение дыхания. В стимуляции хеморецепторов участвуют естественные дыхательные осцилляции  $P_{CO_2}$ ,  $P_{O_2}$  и рН крови. Однако основную роль в регуляции дыхания играет гиперкапническая стимуляция центральных хеморецепторов, способствующая учащению импульсации как инспираторных, так и экспираторных нейронов. Величина минутной вентиляции легких находится в прямой зависимости от напряжения углекислого газа в артериальной крови. В условиях гипоксии ритмическая активность инспираторных нейронов исчезает. По некоторым сведениям, раздражение медулярных хеморецепторов при повышении концентрации водородных ионов во внутренней среде способствует углублению дыхания, тогда как гипоксический фактор, стимулирующий периферические рецепторы, вызывает его учащение. Известно, что у человека метаболический ацидоз сопровождается увеличением дыхательного объема без существенных изменений частоты дыхания. Тем не менее, можно считать доказанным участие медулярных хемочувствительных зон и в регуляции частотных параметров дыхания (Уэст, 1988).

Латентный период активации хеморецепторных афферентов каротидного тела значительно меньше, чем латентный период ответа на стимуляцию медуллярных хеморецепторов. Поэтому при острой гипоксии перестройки паттерна дыхания наступают быстрее, чем при гиперкапнии. Совместное влияние на паттерн дыхания со стороны артериальных и медуллярных хеморецепторов имеет сложный характер. Следует учитывать, что гипоксия, рефлекторно стимулирующая дыхательный центр, вместе с тем, угнетает активность дыхательных нейронов, в том числе и хемочувствительных. Кроме того, в перестройках паттерна дыхания, происходящих под влиянием хеморецепторной стимуляции, существенную роль играет и объемно-зависимая обратная связь, опосредованная механорецепторным контуром регуляции дыхания.

*Механорецепторы.* В воздухоносных путях и легких находятся три типа механорецепторов. Механорецепторы растяжения (медленно адаптирующиеся) расположены в мышечном слое стенок воздухоносных путей. Импульсация от этих рецепторов передается на нейроны дорсальной респираторной группы по толстым миелинизированным волокнам блуждающего нерва. Они информируют дыхательный центр об уровне наполнения легких. Ирритантные рецепторы (быстро адаптирующиеся механорецепторы) локализованы в слизистой оболочке трахеи и бронхов. Они реагируют на раздражение слизистой оболочки пылью, химическими веществами, слизью, табачным дымом, вызывают чихание, кашлевой рефлекс, ощущения першения. Импульсы быстроадаптирующихся рецепторов проводятся тонкими миелинизированными волокнами блуждающего нерва. J-рецепторы иннервируются тонкими C-волоконками и активируются при отеке, эмболии мелких сосудов легких, а также реагируют на никотин, брадикинин, простагландины, гистамин. Активация этих рецепторов приводит к появлению одышки, понижению давления и частоты сердечных сокращений. Помимо перечисленных рецепторов в контроле дыхания также могут участвовать проприорецепторы, периферические и центральные терморецепторы, ноцицепторы.

*Рефлексы Геринга-Брейера.* Механорецепторный контур регуляции дыхания выполняет важнейшую роль в системе управления легочной вентиляцией, обеспечивая обратную связь между центральным звеном (дыхательными нейронами, расположенными в продолговатом мозге) и эфферентными звеньями дыхательной системы, осуществляющими вентиляцию лёгких (респираторными мышцами). Эта система обратных связей определяет соответствие между легочной вентиляцией и потребностями организма в обмене газов, а также обеспечивает автоматический выбор наиболее оптимального паттерна дыхания, что выражается в зависимости частоты и глубины дыхательных движений от объема лёгких. В механорецепторном контуре регуляции дыхания важнейшая

роль принадлежит рефлексам Геринга-Брейера, обеспечивающим объёмную обратную связь дыхательного центра с легкими. Эти рефлексы регулируют частоту и глубину дыхания, которая зависит от степени растяжения лёгких, участвуют в регуляции длительности дыхательных фаз и выполняют защитную функцию, предотвращая излишнее растяжение легких. Рефлексы Геринга-Брейера включаются, когда дыхательные объёмы становятся больше 1,5 литров (т.е. увеличиваются более чем в 3 раза), при спокойном дыхании они не проявляются.

Различают инспираторно-тормозящий и экспираторно-облегчающий рефлексы Геринга-Брейера. Запуск инспираторно-тормозящего рефлекса происходит при значительном увеличении объема вдыхаемого воздуха. Увеличение легочного объема сопровождается усилением афферентации от медленно адаптирующихся рецепторов растяжения легких. Нервные импульсы от механорецепторов по блуждающему нерву поступают в дыхательный центр продолговатого мозга на Рump-нейроны (Р-клетки), которые имеют моносинаптические связи с медленноадаптирующимися рецепторами растяжения воздухоносных путей (Bonham, McCrimmon, 1990; Kubin et al, 2006). Они активируются при увеличении объема легких и тормозятся во время перехода от вдоха к выдоху. Уровень активности Р-клеток полностью определяется объемом легких. Афферентные импульсы от медленно адаптирующихся рецепторов растяжения через Р-клетки поступают на  $\beta$ -инспираторные нейроны дорсальной респираторной группы, которые тормозят  $\alpha$ -инспираторные нейроны, снижая тем самым центральную инспираторную активность и способствуя прерыванию вдоха. Таким образом прекращение вдоха наступает тем скорее, чем глубже данный вдох и чем быстрее он развивается. Усиление инспираторно-тормозящего рефлекса способствует уменьшению продолжительности вдоха и увеличению частоты дыхания. После перерезки блуждающих нервов этот рефлекс не осуществляется, и дыхание становится редким и глубоким.

Стимуляция медленноадаптирующихся рецепторов растяжения оказывает влияние не только на длительность вдоха, но и на длительность выдоха. Рефлекс удлинения выдоха при раздувании легких называется экспираторно-облегчающим рефлексом Геринга - Брейера. Основным механизмом этого рефлекса является активация экспираторных нейронов с затухающим паттерном активности (Kubin et al., 2006). Раздувание легких продлевает период активности этих нейронов обеспечивая, тем самым продление периода выдоха (Hayashi et al., 1996). Кроме того, установлено, что Р-клетки, имеют моносинаптические связи с экспираторными нейронами (Averill et al., 1984). Предполагается, что афферентная импульсация от рецепторов растяжения через Р-клетки

возбуждает экспираторные нейроны в дыхательном центре, которые в свою очередь тормозят инспираторную активность, продлевая фазу экспирации (Takakura et al., 2007).

Таким образом, инспираторно-тормозящий и экспираторно-облегчающий рефлекс Геринга-Брейера представляют собой независимые рефлекторные механизмы, имеющие самостоятельное значение в регуляции дыхательной периодики (Бреслав, Глебовский 1981).

### **1.3. Эндотоксинемия и системная воспалительная реакция (СВР)**

#### ***1.3.1. Бактериальные липополисахариды и эндотоксинемия***

Бактериальный липополисахарид представляет собой соединение, которое входит в состав клеточной стенки грамотрицательных бактерий, например, хорошо изученной *Escherichia coli*; кроме того, липополисахарид играет важную роль в бактериальном патогенезе (Wang, Quinn, 2010; Maldonado et al., 2016). Синонимом термина «липополисахарид» также служит термин «эндотоксин», а накопление в крови и тканях организма эндотоксина носит название эндотоксинемии или синдрома эндогенной интоксикации. Эндотоксины могут попадать в системный кровоток экзогенным путем в результате травмы, местной или системной инфекции грамотрицательными бактериями, а также проникать в кровь из кишечника, богатого своей микрофлорой (Boutagy et al., 2016).

*Молекулярный механизм действия ЛПС.* С химической точки зрения, ЛПС – это полимер, состоящий из гидрофобного липидного домена А, базисной части и полисахарида О-антигена, терминальная часть которого выходит на поверхность клетки и отвечает за антигенную специфичность клетки (Ramachandran, 2014) (рис. 1.3). Липополисахарид удерживается в наружной мембране бактерии липидным доменом А, который придает токсичность липополисахариду. Токсичность зависит от длины липида А, положения и количества цепей жирных кислот. Липид А представляет собой фосфолипид на основе глюкозамина, который составляет внешний монослой наружных мембран большинства грамотрицательных бактерий. Большинство типов молекул липида А обнаруживаются на пикомолярных уровнях рецепторами врожденного иммунитета, присутствующим на макрофагах и эндотелиальных клетках животных (Raetz, Whitfield, 2002). Далее липид А соединяется с базисной частью липополисахарида – олигосахаридным ядром, которое состоит из цепочки простых сахаров. От ядра липополисахарида отходит О-специфическая цепь (О-антиген), определяющая серогруппу определенного штамма бактерий (Воробьев и др., 2003).



Рис. 1.3. Липополисахарид состоит из липида А, центрального олигосахарида (ядра) и O-специфической боковой цепи полисахарида. Липид А является токсичным компонентом, который способствует воспалению и лихорадке (адаптировано из Parker et al., 2017).

Липополисахарид - единственный липид в составе клеточной стенки грамотрицательных бактерий, он является одним из важнейших факторов патогенности бактерий, обеспечивающий поддержание их целостности и взаимодействие с другими клетками. Наружная мембрана *E. coli* содержит около  $3,5 \times 10^6$  молекул ЛПС (Дегтярев, Будылина, 2006). Пока липополисахарид находится в составе наружной мембраны бактерии, она не токсична. Однако, при гибели бактерии, вызванной, например, антибиотиками, белками системы комплемента или фагоцитозом эндотоксин выделяется. Пирогенная активность ЛПС высока: чтобы произошло развитие лихорадочного приступа необходима концентрация 1 нг/мл (около 10 ЕА/мл) во вводимом растворе, тогда как концентрация других пирогенов в инфузионном растворе должна быть в 100–1000 раз больше для развития такого же пирогенного ответа.

Для активации иммунного ответа, вызванного наличием ЛПС в кровотоке требуется последовательное действие по меньшей мере четырех белков - липополисахарид связывающего белка встроенного в цитоплазматическую мембрану клеток неспецифического иммунитета и ЛПС-рецепторного комплекса, состоящего из мембранного белка CD14 (cluster of differentiation 14), толл-подобного рецептор 4 (TLR4, toll-like receptor 4) и корецептора MD-2 (myeloid differentiation protein-2), обеспечивающих передачу сигналов эндотоксина. Такие белки присутствуют на поверхности моноцитов, макрофагов, дендритных и эпителиальных клеток. Активация ЛПС-чувствительных клеток происходит сразу после того, как ЛПС взаимодействует с циркулирующим ЛПС-связывающим белком и CD14, рецептором на поверхности клеток, необходимым для эффективного ответа на ЛПС (Mohammad, Thiernemann, 2021). Затем Липополисахарид переносится с CD14 на трансмембранный корецептор TLR4 / MD-2 и запускает экспрессию цитокинов и увеличение секреции гуморальных медиаторов. Причем TLR4 требует наличия молекулы MD-2 на клеточной поверхности для инициирования сигнала, вызванного ЛПС. MD-2 различает тонкие структуры липида А и тем самым регулирует активацию TLR4 (Blais et al., 2005; Tsukamoto et al., 2010; Яковлев, 2021). Активированный TLR4

гомодимеризуется, приводит к димеризации цитоплазматического TIR-домена (толл-подобного рецептора интерлейкина-1; toll/IL-1- receptor), который обеспечивает сайт связывания MyD88 (ген первичного ответа миелоидной дифференцировки 88; myeloid differentiation primary response gene 88). MyD88 участвует в передаче сигнала от толл-подобных рецепторов и может активировать ядерный транскрипционный фактор-kB (NF-kB) и MAPK (митоген-активируемую протеинкиназу) и транскрипцию различных провоспалительных цитокинов (Mazgaeen, Gurung, 2020; Mohammad, Thiemermann, 2021).

Передача сигналов TLR4 может осуществляться не только на поверхности клеток, но и внутриклеточно, через эндосомы. В этом случае внутри эндосомы осуществляется сборка TRIF (толл-подобный рецептор, содержащий домен TIR, индуцирующий IFN- $\beta$ ) и TRAM (молекула, родственная TRIF). TRIF-зависимый сигналинг реализуется после миграции толл-подобного рецептора 4 в эндосому. TRAM способствует активации IRF3 (фактора регуляции интерферона 3) и индукции интерферонов (Mazgaeen, Gurung, 2020).

Сила иммунного ответа напрямую связана с составом ЛПС. Липополисахарид, полученный от разных бактерий, имеющий различные изоформы и отличающийся по своему строению, может по-разному воздействовать на цитокины и вызывать разные по интенсивности ответы иммунной системы. Например, в составе ЛПС из *Escherichia coli* и из *Salmonella typhimurim* липиды А имеют разное строение (асимметричное распределение жирных кислот, являются бифосфорилированными, и различаются по количеству жирных кислот). Липид А из *E. coli* имеет максимальную эндотоксическую активность, в его состав входит 6 жирных кислот, в то время как липид А из *Salmonella typhimurim* имеет минимальную эндотоксическую активность и состоит из 7 жирных кислот (Волошина и др., 2009).

*Эндотоксинемия* представляет собой накопление в организме эндотоксина и вызывает запуск иммунного ответа. Повышение уровня эндотоксина приводит к массовому выбросу провоспалительных цитокинов (Andersson, Tracey, 2012), что может привести к повреждению клеток и тканей организма, шоку, системному воспалению, сепсису и полиорганной недостаточности.

Известно, что липополисахарид может играть важную роль в развитии хронических заболеваний посредством активации воспалительных реакций. В норме эпителий кишечника представляет собой барьер, препятствующий всасыванию липополисахаридов. При изменении питания могут происходить структурные изменения кишечного эпителия. При этом небольшие количества ЛПС перемещаются из просвета кишечника в системный кровоток, что приводит к повышению уровня ЛПС в плазме, развивается так называемая метаболическая эндотоксинемия (Mohammad, Thiemermann, 2021). Повышенные



концентрации ЛПС в плазме крови регистрируются при потреблении большого количества жиров, алкоголя различных хронических неинфекционных заболеваниях, включая ожирение, неалкогольную жировую болезнь печени, атеросклероз, диабет II типа (Bala et al., 2014; Minihane et al., 2015; Liangpunsakul et al., 2017). Предполагается, что эндотоксин может способствовать метаболическим нарушениям, лежащим в основе этих заболеваний (Moreira et al., 2012; Faraj et al., 2017).

Повышение системного уровня эндотоксина приводит к изменениям работы висцеральных систем (Goossens et al., 2022). Сердечно-сосудистая и дыхательная системы при воспалительной реакции реагируют одними из первых. Ранний сепсис характеризуется повышенным уровнем катехоламинов, что приводит к увеличению сократительной способности сердца и частоты сердечных сокращений. Когда энергетические возможности миокарда превышают потребности организма, кардиомиоциты подвергаются риску гибели. Во время септического шока у 60% пациентов наблюдается нарушение работы сердца и депрессия миокарда (Rudiger, 2010). Amorim и др. отмечают, что введение ЛПС приводит к падению артериального давления и тахикардии (Amorim et al., 2019; Amorim et al., 2020). Причем, авторы связывают тахикардию с механизмами, приводящими к снижению модуляции блуждающего нерва к сердцу. Shen и др. сообщают, что при эндотоксемическом состоянии падение давления и расширение сосудов, сопровождается значительным увеличением производства оксида азота (NO) и снижением чувствительности к эндогенным сосудосуживающим средствам, что в конечном итоге приводит к коллапсу кровообращения (Shen et al., 2004). В здоровом организме при отсутствии воспалительных процессов NO оказывает положительное инотропное действие, оптимизируя сердечную деятельность и кровенаполнение сердца. Однако избыточная продукция NO во время сепсиса вызывает нарушение сократительной функции миокарда и играет важную роль в развитии гипотензии (Van de Sandt et al., 2013).

Отмечается также снижение барорефлекторной чувствительности на фоне введения ЛПС (Radaelli et al., 2013; Amorim et al., 2019). Amorim и др. также отмечают, что изменение барорефлекторной чувствительности может быть связано с изменениями давления в каротидном синусе, от которого берут начало афференты барорецепторов и нарушением работы ЯСТ из-за нейровоспаления во время системной воспалительной реакции (Amorim et al., 2019). Wideman и др. в исследованиях на бройлерах отмечают, что влияние ЛПС на легкие может приводить как к тромбоксан и серотонин опосредованной вазоконстрикции легких, приводящей к легочной гипертензии, так и к NO-опосредованной легочной вазодилатации (Wideman et al., 2004). Воспаление увеличивает проницаемость сосудов, что

приводит к отеку легких, который может возникать в ответ на первичные легочные инфекции, но также проявляется при эндотоксемии и сепсисе (Boehm et al., 2020).

### ***1.3.2. Общая характеристика системной воспалительной реакции***

Воспаление является универсальным и наиболее распространенным патологическим процессом, лежащим в основе большинства известных заболеваний человека (Черешнев, Гусев, 2012). Системная воспалительная реакция – это универсальный системный ответ организма на тяжелое воздействие различных повреждающих агентов (Савельева, Кириенко, 2006). СВР начали углубленно изучать с восьмидесятых годов прошлого столетия и одним из первых ученых, внедривших понятие компенсаторного системного воспалительного ответа в медицинскую теорию и практику в 1996 году, стал R. Bone. В дальнейшем его последователи изучали компоненты СВР, пытаясь понять и описать основные механизмы её развития (Барбарац, Григорьев, 2013).

По существу, СВР не является заболеванием, она является проявлениями системного воспаления. Причиной могут быть массивные ожоги, травматические повреждения, хирургические операции, тяжелый панкреонекроз, внутрибрюшные катастрофы, разрывы аневризмы аорты, инфекции, неадекватная анестезия. Действие повреждающего фактора формирует в организме неспецифическую воспалительную ответную реакцию, направленную на активацию врожденного иммунитета и запуск каскада реакций, направленных на обезвреживание патогенна, его связывание и утилизацию. Если локальные механизмы в зоне очага воспаления не помогают справиться с патогеном, то происходит генерализация воспалительных реакций, расширение фокуса повреждения и распространение воспалительного ответа на другие системы организма, что получило название острофазового ответа. Если лечение СВР проводится несвоевременно или является неадекватным, в итоге развивается повреждение органов и систем, не имеющих никакого отношения к первоначальному процессу (Волков, Волков, 2009). Результатом может быть нарушение кровообращения, устойчивая гипотензия, скачки артериального давления, тахикардия, эпизоды апноэ, нарушения работы ЖКТ и другие опасные состояния. Системная воспалительная реакция характеризуется следующими симптомами (Авдеева, 2010): повышение или понижение температуры тела, учащенное сердцебиение, гипервентиляция, лейкоцитоз или лейкопения, гиперцитокинемия.

Понятие синдрома системной воспалительной реакции (от англ. systemic inflammatory response syndrome – SIRS) было введено в медицинскую практику в 1991 г. в Чикаго на конференции двух Североамериканских клинических обществ при участии Общества медицины критических состояний и Американского колледжа пульмонологов (ACCP/ SCCM). В 2015 году на III Международном консенсусе по определению сепсиса и

септического шока (The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3) были внесены существенные правки в определение критериев синдрома системной воспалительной реакции и сепсиса. Если на Чикагской конференции в 1991 году были разработаны первоначальные определения, в которых основное внимание уделялось преобладающей на тот момент точке зрения о том, что сепсис является результатом синдрома системного воспалительного ответа хозяина на инфекцию, а сепсис, осложненный дисфункцией органов, был назван тяжелым сепсисом, который мог перерасти в септический шок, определяемый как «индуцированная сепсисом гипотензия, сохраняющаяся несмотря на адекватную реанимацию», то на консенсусе Sepsis-3 сепсис охарактеризовали как опасную для жизни дисфункцию органов, вызванную нерегулируемой реакцией организма хозяина на инфекцию. Это новое определение подчеркнуло не поддающийся контролю ответ хозяина на инфекцию, потенциальную летальность, значительно превышающую опасность обычной инфекции, и необходимость быстрого распознавания и срочного лечения. Было признано, что синдром СВР не обязательно указывает на нерегулируемый, опасный для жизни ответ, потому как его критерии присутствуют у многих госпитализированных пациентов, в том числе у тех, у которых никогда не развивается сепсис и не возникают неблагоприятные результаты. «Воспалительные» механизмы, для которых характерны признаки системной воспалительной реакции, в целом носят адаптационный характер и не могут непосредственно определять патогенез, например, шокового состояния (Черешнев, Гусев, 2012; Акопян, 2012).

### ***1.3.3. Сепсис***

Понятие сепсис определяется как синдром системной воспалительной реакции инфекционной природы в сочетании с остро возникшими признаками системного повреждения собственных тканей и органов. При этом синдром системной воспалительной реакции, сепсис, тяжелый сепсис, септический шок и синдром полиорганной недостаточности представляют собой различные стадии единого процесса, подразумевающего системную активацию воспалительной ответной реакции, затрагивающую все органы и системы.

В рутинной практике понятия «сепсис» и «тяжелый сепсис» часто используются как взаимозаменяемые, тогда как другие являются избыточными (например, синдром сепсиса) или чрезмерно узкими (например, септицемия). (Гельфанд, 2009). При этом, септический шок определяется как разновидность сепсиса, при котором основные нарушения кровообращения и клеточные/метаболические нарушения достаточно глубоки и связаны с

более высоким риском смертности, чем один только сепсис (Гельфанд, 2009; Shankar-Hari et al., 2016; Singer et al., 2016).

При развитии тяжелого сепсиса важное значение имеет миграция нейтрофилов из кровяного русла через эндотелий сосудов в ткани, к месту воспаления. Нейтрофилы являются первой линией защиты организма от чужеродных захватчиков, которые не только помогают противостоять воспалению, но и способствуют развитию вторичных осложнений (Hazeldine et al., 2014). В здоровом организме нейтрофилы циркулируют в течение короткого периода времени (около 6 часов), затем стареют и выводятся печенью, селезенкой или костным мозгом. При появлении в организме инородного агента нейтрофилы реагируют быстрой и избирательной мобилизацией и мигрируют к месту инфекции. Их движение регулируется провоспалительными медиаторами (в том числе интерлейкином-1 $\beta$  и фактором некроза опухолей- $\alpha$ ) и хемоаттрактантами (например, хемокинами и липидными медиаторами). В тканях нейтрофилы вырабатывают протеолитические ферменты и активные формы кислорода в ответ на действие раздражителей. Эти радикалы обладают высокой цитотоксичностью и используются нейтрофилами для уничтожения бактерий и других патогенов (Cinel, Opal, 2009). Хотя эти вещества важны для защиты хозяина, их чрезмерное количество также способствует повреждению тканей, усилению воспалительной реакции с последующей дисфункцией органов. Работа нейтрофилов может нарушаться на поздней стадии сепсиса и вызывать ингибирование апоптоза и нарушение хемотаксической функции (Guo, Ting, 2020). Нарушение миграции нейтрофилов, возникающая на последних стадиях тяжелого сепсиса, способствует неспособности организма сдерживать и контролировать распространение инфекции и ухудшает заживление ран (Lerman, Kim, 2015). Кроме того, нарушение миграции нейтрофилов к очагу инфекции, называемое также нейтрофильным параличом, является критическим признаком сепсиса, который напрямую связан с тяжестью заболевания (Alves-Filho et al., 2010) и со смертностью при сепсисе (Martín-Fernández et al., 2021). Механизмы нарушения миграции нейтрофилов до сих пор не изучены до конца. Тем не менее известно, что они включают системную активацию Toll-подобных рецепторов бактериями и/или продуктами их жизнедеятельности. Это событие вызывает продукцию большого количества цитокинов, хемокинов и стимулирует экспрессию iNOS, которая продуцирует оксид азота. Оксид азота уменьшает адгезию между нейтрофилами и эндотелием сосудов, снижает хемотаксический ответ нейтрофилов и приводит к нарушению миграции последних к месту воспаления (Alves-Filho et al., 2008). Обширные исследования показали, что дисфункция нейтрофилов ухудшает работу врожденной

иммунной системы, а нарушение регуляции иммунного ответа на инфекцию и последующее повреждение тканей лежит в основе патофизиологии сепсиса (Guo, Ting, 2020).

Исследования, проведенные на животных моделях сепсиса, а также на пациентах, умерших от сепсиса и полиорганной недостаточности, показали, что сепсис вызывает обширную потерю иммунных клеток вследствие апоптоза, что может способствовать нарушению иммунного ответа (Hotchkiss et al., 2005; Hotchkiss et al., 2001). С одной стороны, лимфоциты продуцируют провоспалительные цитокины и активируют макрофаги, поэтому снижение их количества может приводить к подавлению чрезмерной воспалительной реакции. С другой стороны, потеря лимфоцитов при сепсисе может иметь негативные последствия, поскольку снижает способность иммунной системы хозяина бороться с патогенами (Hotchkiss et al., 2001). Подавление иммунитета, происходящее наряду с врожденной гиперовоспалительной реакцией, может стать хроническим и привести к отсроченным нежелательным последствиям.

Фундаментальным патофизиологическим событием, которое возникает уже на ранних стадиях сепсиса является дисфункция эндотелиального барьера. В нормальных условиях эндотелий сосудов регулирует микроциркуляцию между кровью и тканями газов, воды, растворенных веществ, гормонов, липидов, белков и множества других макромолекул. Целостность эндотелия поддерживается цитоскелетом клетки (актином), молекулами межклеточной адгезии (плотными контактами) и множеством поддерживающих белков, однако при сепсисе эти структуры первыми подвергаются разрушению. Целостность эндотелия нарушается вследствие адгезии тромбоцитов и нейтрофилов, высвобождения медиаторов воспаления и токсичных окислительных и нитрозирующих промежуточных продуктов. Происходит перепрограммирование эндотелиальных клеток в сторону проапоптотического, провоспалительного, проадгезивного и прокоагулянтного фенотипов (Hotchkiss et al., 2016; Joffre et al., 2020).

#### ***1.3.4. Моделирование системной воспалительной реакции***

Системное воспаление играет ключевую роль в патологии множества состояний, включая сепсис, травму, хирургические операции и ожоги.

Важной проблемой современной медицины является своевременная диагностика системной воспалительной реакции в те периоды, когда функциональные нарушения органов еще отсутствуют, но уже активируются ранние воспалительные процессы и происходит распространение медиаторов воспаления.

*Моделирование СВР у человека.* Эндотоксинемия как экспериментальная модель, в которой здоровым добровольцам внутривенно вводят эндотоксин (например, ЛПС), является экспериментальным методом, используемым уже более шести десятилетий для

создания модели системного воспаления. Во время экспериментальной эндотоксемии разворачивается кратковременная, хорошо переносимая и контролируемая системная воспалительная реакция, аналогичная той, которая наблюдается во время сепсиса (van Lier et al., 2019). Инъекция ЛПС вызывает такие симптомы, как озноб, тошноту, повышение температуры тела и увеличение ЧСС (Kamisoglu et al., 2015). Модель, при которой липополисахарид внутривенно вводится здоровым добровольцам помогает в изучении механизмов развития системной воспалительной реакции и даёт возможность разработать и исследовать рациональную клиническую терапию для предотвращения или ослабления усиленной или неконтролируемой СВР (Andreasen et al., 2008; Calvano, Coyle, 2012).

*Моделирование СВР у животных.* Для ранней диагностики и тщательного изучения механизмов, по которым СВР развивается в организме необходимо использование животных моделей. Существует несколько экспериментальных моделей на животных, каждая из которых пытается имитировать патофизиологические изменения, обычно наблюдаемые у пациентов с СВР и сепсисом. Такие модели предусматривают внутрисосудистую инфузию эндотоксина или живых бактерий, бактериальный перитонит, перевязку слепой кишки с дальнейшей перфорацией, инфекцию мягких тканей, модели пневмонии или менингита с использованием различных видов животных, включая крыс, мышей, кроликов, собак, свиней, овец и приматов (Poli-de-Figueiredo et al., 2008). Наиболее часто в качестве экспериментальных моделей используются грызуны. Короткий репродуктивный цикл, высокая рождаемость, небольшой размер и удобные способы содержания делают этих млекопитающих наиболее распространенным видом экспериментальных животных для разработки моделей острых и хронических заболеваний человека. Тем не менее даже широко используемые животные модели точно не воспроизводят многие важные клинические симптомы и не дублируют воспалительные и противовоспалительные процессы, развивающиеся в организме человека при СВР и сепсисе. Хотя предпринимаются попытки использования крупных животных, в том числе, приматов, для имитирования СВР и сепсиса, механизмы развития воспалительных процессов у человека в клинических условиях более сложны и многообразны. Методика использования животных моделей ограничена, не отражает разнообразия инфекционных агентов и не может дать точного предсказания клинического развития инфекции.

Моделирование СВР путем развития перитонита может производиться у животных несколькими способами. Первый способ подразумевает введение животному в брюшную полость инородных веществ (синтетические материалы, пробки, марли). Второй способ - индукция перитонита путем введения чистых культур микроорганизмов или их смесей. В третьем случае используется введение различных химических веществ (формалин,

дистиллированная вода, скипидар и др.). Модели четвертой группы основаны на введении в брюшную полость взвеси кала других животных. Пятый способ включает модели перитонита, характеризующиеся механическим повреждением желудочно-кишечного тракта с нарушением целостности его просвета (Буянов и др., 1997; Панченков и др., 2011). Среди наиболее распространенных экспериментальных моделей можно отметить модель перитонита, вызванную лигированием и перфорацией слепой кишки, что имитирует сепсис абдоминального происхождения (Hua et al., 2018). В этом случае возникает полимикробный инфекционный очаг в брюшной полости, который, распространяясь через системный кровоток, вызывает системную воспалительную реакцию.

Также в экспериментах на анестезированных животных СВР вызывают обширными (до 20% от площади поверхности тела) ожогами и/или множественными переломами костей, например, обеих бедренных (Dahiya et al., 2009; Li et al., 2016). Еще одним способом получения СВР в лабораторных условиях является введение зимозана – биополимера дрожжевой оболочки *Saccharomyces cerevisiae* (Lu et al., 2011) или живых бактерий (*Staphylococcus aureus*, *E. coli* и *Pseudomonas aeruginosa*) (Poli-de-Figueiredo et al., 2008). Существуют модели СВР, вызываемой ишемией различных сосудов, например, нижней части тела, полученной путём пережатия брюшной аорты или кишечника – перевязкой верхней брыжеечной артерии (Choi et al., 2009; Gyurkovich et al., 2011). Искусственный инсульт также может вызвать СВР и используется как её модель (Losano et al., 2005). И, наконец, моделирование СВР путем введения в организм экзогенных бактерий или фрагментов их клеточной стенки, к которым относится бактериальный липополисахарид (Doi et al., 2009).

Эндотоксин или ЛПС, как основной компонент клеточной стенки грамотрицательных бактерий, стимулирует высвобождение медиаторов воспаления из различных типов клеток, ответственных за иницирование СВР и сепсиса (Poli-de-Figueiredo et al., 2008). Согласно литературным данным, введение липополисахарида может осуществляться внутрибрюшинно (Stahl et al., 2013) указывают, что при моделировании СВР был использован ЛПС в дозировке 120 мг/кг веса животного. В таких условиях симптомы СВР развиваются уже спустя 2-5 часов: регистрируется учащение сердечных сокращений (тахикардия) и дыхательных движений (тахипноэ), также при этом наблюдается повышение температуры тела. Эффекты СВР удавалось воспроизводить и путем введения меньших доз ЛПС (10 мг/кг) в других экспериментальных условиях (Steven et al., 2017). Дозировка ЛПС, используемого для возникновения системных симптомов варьирует, в литературе есть данные об эффектах внутривенного введения различных доз ЛПС. Описываются также эффективные дозировки в 2 мг/кг, 4 мг/кг, 6 мг/кг

и 8 мг/кг (Wang et al., 2008; Li et al., 2016) при внутривенной инъекции. Известны эксперименты с введением 250 мкг/кг ЛПС внутривенно животным, находящимся под ингаляционным наркозом. При этом авторы отмечают выраженный лейкоцитоз, в частности, значительный рост количества нейтрофилов в крови уже через три часа после инъекции (Altenburg et al., 1997). Чувствительность к эндотоксину имеет межвидовые различия. Грызуны, кошки и собаки относительно устойчивы к эндотоксинам, в то время как люди, кролики, овцы и приматы демонстрируют более усиленную ответную реакцию (Poli-de-Figueiredo et al., 2008). Исследования показали, что ЛПС может разрушать гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) с помощью различных механизмов, а повреждение ГЭБ будет способствовать развитию множественных заболеваний головного мозга, включая энцефалопатию (Peng et al., 2021). ЛПС повышает проницаемость ГЭБ повреждая плотные контакты и позволяя опасным химическим веществам проходить через ГЭБ и вызывать дисфункцию ЦНС (Cheng et al., 2018). Предположительно, повреждение ГЭБ может быть связано с митохондриальной дисфункцией в эндотелиальных клетках и играет решающую роль в распространении ЛПС-опосредованной энцефалопатии (Haileselassie et al., 2020). Одним из факторов, запускающих этот процесс, могут быть провоспалительные цитокины (Mera et al., 2011). Развивающиеся при этом снижение сосудистого тонуса и увеличение проницаемости сосудистой стенки приводят к нарушению микроциркуляции в органах, снижению объёма циркулирующей крови и гипотонии.

Для нашей работы наибольший интерес представляли модели СВР с использованием ЛПС по нескольким причинам: во-первых, введение эндотоксина является одной из простейших моделей для СВР; во-вторых, такая модель наиболее пригодна для изучения дыхания и кровообращения и механизмов их регуляции на фоне эндотоксинемии у анестезированных крыс. Кроме того, экспериментальная модель должна быть недорогостоящей и не причинять чрезмерного беспокойства экспериментальным животным.

#### **1.4. Провоспалительные цитокины**

Защитная реакция организма на воспаление, независимо от его локализации в организме, развивается при участии многочисленных медиаторов воспаления, в том числе медиаторов цитокиновой системы (Черешнев, Гусев, 2012). Термин «цитокины» является обобщенным и включает в себя секретируемые низкомолекулярные белки, полипептиды, продуцируемые многими типами клеток: активированными лимфоцитами, макрофагами, клетками эндотелия, эпителия, соединительной ткани и др.



### ***1.4.1. Общая характеристика и классификация***

Термин «цитокины» в 1974 г. был введен N. Cohen и др. На тот момент считалось, что цитокины вырабатываются клетками иммунной системы для регуляции ее работы. Затем стало известно, что цитокины синтезируются и другими клетками, например, эндотелиальными и могут участвовать в регуляции гемопоэза, иммунного ответа, хемотаксиса лейкоцитов, ангиогенеза (Телетаева, 2007). Цитокины имеют молекулярную массу от 6 до 80 кД и работают как одна система взаимосвязанных между собой медиаторов, образующих вместе с продуцирующими их клетками, а также с клетками, которые отвечают на воздействие медиаторов, единую систему цитокинов (Козлов, 2010).

Выделяют несколько групп цитокинов: – интерлейкины (ИЛ), факторы некроза опухоли (ФНО), колониестимулирующие факторы (КСФ), факторы роста, интерфероны (ИФН), хемокины. Основная цитокиновая активность связана с участием в клеточном иммунном ответе и процессах острого и хронического воспаления. Выделяют следующие функции цитокинов (по Гомазков, 2004): рост, дифференцировка клеток (интерлейкины ИЛ-2, ИЛ-4; а также ИЛ-1); регуляция естественного иммунитета (трансформирующий фактор роста-альфа, ИЛ-1 $\beta$ , ИФН-альфа, ИФН-бета, ИЛ-6); стимуляция провоспалительной активности макрофагов, как следствие иммунной реакции (ИФН-гамма, трансформирующие факторы роста альфа и бета, ИЛ-5, ИЛ-10, ИЛ-12), регуляция хемотаксической активности лимфоцитов (большинство хемокинов); стимуляция гемопоэза (КСФ, ИЛ-3, ИЛ-7). Вместе с тем, цитокины выполняют и множество других функций: регуляция межклеточных и межсистемных взаимодействий, определение характера иммунного ответа (тип и длительность), активация или замедление клеточного роста, дифференцировка и функциональная активность клеток, ангиогенеза и апоптоза.

Биологический эффект цитокинов на клеточном уровне может быть реализован внеклеточным и внутриклеточным путём через взаимодействие со специфическими рецепторами, локализованными на клеточной цитоплазматической мембране. Цитокиновая система обладает свойством избыточности, т.е. одни и те же цитокины синтезируются различными клетками-предшественниками. Сами цитокины обладают способностью воздействовать друг на друга, усиливая или наоборот угнетая функции, а также саму их выработку.

Исследования показали широкое распространение в головном мозге рецепторов к цитокинам. Различные типы клеток нервной системы (астроциты, олигодендроциты, микроглия и нейроны) имеют цитокиновые рецепторы. Такие рецепторы были обнаружены в основных структурах, относящихся к ЦАС: в коре больших полушарий, подкорковых ядрах, гиппокампе, обонятельном мозге, мозжечке, гипофизе, таламусе, гипоталамусе

(Wong et al., 1994; Gayle et al., 1999; Bajetto et al., 2002). Наличие цитокиновых рецепторов обнаружилось также в ядрах мозгового ствола, включая ядро солитарного тракта (Dantzer et al., 2000; Anisman, Merali, 2002).

#### ***1.4.2. Индукция провоспалительных цитокинов при эндотоксинемии***

Одной из главных особенностей цитокинов является способность образовывать цитокиновую сеть – единую систему элементов, находящихся в постоянном взаимодействии между собой. При отсутствии стимуляторов, активирующих действие цитокинов, цитокиновая сеть работает на минимальном уровне. Некоторые иммуномедиаторы и гемопоезические цитокины функционируют в организме постоянно, большая же часть цитокинов активируется лишь при наличии стимулирующих агентов и антигенов, например, при развитии воспалительной реакции. Начальные стадии локальной воспалительной реакции осуществляются под контролем провоспалительных цитокинов интерлейкинов (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-12), фактора некроза опухоли и интерферонов. Далее, если воспалительные процессы превосходят противовоспалительные, происходит повреждение первичных барьерных структур в зоне воспаления и воспалительные медиаторы «прорываются» в системный кровоток. Основной функцией провоспалительных медиаторов в кровяном русле является привлечение лейкоцитов, факторов свертывания крови, белков системы комплемента и др. Это необходимо для предотвращения дальнейшего воспаления и запуска восстановительных процессов. Накопление провоспалительных цитокинов в крови и реализация их дистантных эффектов является важнейшим механизмом развития СВР (Гельфанд, 2009). Начальное воспаление, вызванное цитокинами, может привести к чрезмерному повреждению тканей и органов, например, из-за высвобождения радикалов нейтрофилами (Bergmann et al., 2021).

Из большого круга кровообращения цитокины могут получить доступ к головному мозгу через транспортные системы с помощью механизмов, которые до сих пор неизвестны, но, вероятно, включают диффузию (Vitkovic et al., 2000). Также известно, что цитокины активируют первичные афферентные нервы – блуждающий и тройничный нервы (Dantzer et al., 2008). Афференты блуждающего нерва проецируются к ядру солитарного тракта, а оттуда к парабрахиальному комплексу, вентролатеральному мозговому веществу, ядрам гипоталамуса, миндалине и ядру ложа терминальной полоски (Dantzer et al., 2008). Выработка провоспалительных цитокинов ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, обладающих способностью к каскадной активации других компонентов ответной реакции, приводит к веерному увеличению числа клеток, участвующих в иммунном ответе (макрофаги, гранулоциты, Т- и В-лимфоциты; фибробласты, клетки эпителия и эндотелия). Если возникает нарушение баланса между противовоспалительными и провоспалительными

цитокинами в сторону последних, развивается воспаление на системном уровне, в котором участвуют практически все органы и системы организма (Гельфанд, Салтанов, 2000). Провоспалительные цитокины, вырабатываемые при системном воспалении оказывают влияние на глиальные клетки и нейроны ЦНС, включая те её отделы, которые участвуют в контроле автономных функций (Felger, 2018; Amorim et al., 2019). Многие из цитокинов, включая ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 и ФНО, могут высвобождаться активированными астроцитами или микроглией, а также клетками иммунной системы, способствуя как нормальной функции, так и патологическим состояниям ЦНС (Stone et al., 2022).

ФНО является важным медиатором воспаления и участвует в патогенезе ряда аутоиммунных, инфекционных или раковых заболеваний. Во время воспалительной реакции ФНО оказывает двойное действие, вызывая как полезные, так и вредные эффекты. С одной стороны, ФНО является ключевым цитокином, участвующим в противовирусных, антибактериальных и противопаразитарных защитных механизмах организма; с другой стороны, при мощном воспалительном процессе системная выработка ФНО приводит к развитию токсических вторичных эффектов, может быть причиной развития осложнений острых воспалительных процессов и септического шока, а также играет важную роль в патогенезе аутоиммунных заболеваний и реакций отторжения трансплантата (Branellec, Chouaib, 1991). После активации в очаге острого воспаления ФНО- $\alpha$  индуцирует активацию нейтрофилов и макрофагов и их хемотаксис, вызывает повышение синтеза факторов роста и белков острой фазы. С током крови диффундирует через ГЭБ и, взаимодействуя с нейронами терморегуляционного центра гипоталамуса приводит к развитию лихорадки. Также ФНО увеличивает проницаемость сосудистой стенки, что способствует повреждению эндотелия сосудов, тромбозу, формированию геморрагических некрозов (Дунаев и др., 2012), а также нарушениям в деятельности дыхательной системы (Aleksandrova et al., 2021).

Известны два основных типа рецепторов ФНО- $\alpha$  – рецепторы TNF-R1 и TNF-R2, которые по-разному экспрессируются в различных тканях. TNF-R1, присутствует во всех тканях человека, а TNF-R2, экспрессируется главным образом в иммунных клетках, нейронах и эндотелиальных клетках (Locksley et al., 2001; Ramseyer, Garvin, 2013; Holbrook et al., 2019). Преобладают TNF-R1, посредством которых ФНО- $\alpha$  осуществляет большую часть своих биологических эффектов. Экспрессия белков TNF-R могут регулироваться цитокинами, особенно интерферонами (Sedger, McDermott, 2014). Взаимодействие ФНО- $\alpha$  с обоими типами рецепторов на поверхности клетки-мишени может приводить к разным последствиям. Во-первых, может напрямую или опосредованно вызвать апоптоз клетки-мишени. Во-вторых, возможна обратная ситуация, приводящая к активации клетки и

блокировки развития в ней апоптоза. Факторы, определяющие ответ клетки на ФНО- $\alpha$ , остаются дискуссионными (Дунаев и др., 2012). В целом существуют различные специфические для TNF-R сигнальные пути, которые чрезвычайно сложны, но которые учитывают все аспекты способности ФНО- $\alpha$  индуцировать как гибель клеток, так и/или костимуляцию и активацию других клеток (Sedger, McDermott, 2014).

Можно предполагать, что изменение уровня цитокинов в тканях головного мозга оказывает модулирующее воздействие на работу рефлекторных механизмов, осуществляющих регуляцию автономных функций и поведение висцеральных систем в условиях эндотоксинемии.

### **1.5. Гипоталамо-гипофизарно-адреналовая ось**

Гипоталамо-гипофизарно-адреналовая ось (*hypothalamic-pituitary-adrenal axis*, НРА) играет важную роль в поддержании гомеостаза, участвует в формировании устойчивости организма к воздействию стрессорных факторов окружающей среды. При правильном функционировании, гипоталамо-гипофизарно-адреналовая ось имеет решающее значение для поддержания здоровья, однако нарушение работы НРА связано с психическими и физическими расстройствами (Leistner, Menke, 2020).

#### **1.5.1. Состав и функции гипоталамо-гипофизарно-адреналовой оси**

Гипоталамо-гипофизарно-адреналовая ось представляет собой нейроэндокринную ось, позволяющую адекватно реагировать на разного рода стрессовые (физические или эмоциональные) события. Мощными индукторами НРА оси являются провоспалительные цитокины, такие как ИЛ-1 $\beta$ , ФНО и ИЛ-6, (Vandewalle, Libert, 2020). К НРА относятся три ключевые структуры, а именно, паравентрикулярное ядро гипоталамуса, передняя доля гипофиза и надпочечники (Oyola, Handa, 2017).

Гипоталамус является высшим центром регуляции вегетативных функций и координирует деятельность симпатического и парасимпатического отделов вегетативной нервной системы, согласуя ее с двигательной активностью (Ткаченко, 2005). Он имеет связи с другими структурами ЦНС, в т.ч. с лимбической системой, ретикулярной формацией и корой больших полушарий, за счет чего может координировать вегетативные функции с различным поведением. Паравентрикулярное ядро гипоталамуса, реагируя на нейрональные и гуморальные сигналы, активирует специализированные парвоцеллюлярные нейроны, секретирующие кортикотропин-рилизинг-гормон и аргинин-вазопрессин, вырабатывающие вазопрессин (Herman et al., 2012; Tsigos et al.,

2020). В ответ на стресс кортикотропин-рилизинг-гормон и вазопрессин высвобождаются в портальные сосуды гипофиза, которые достигают передней его доли.

Гипофиз, находящийся под контролем гипоталамуса, является сложным эндокринным органом, располагается в турецком седле, связан анатомической ножкой с гипоталамусом и состоит из трех долей: передней и средней, которые образуют собой аденогипофиз, и задней – нейрогипофиз. На уровне передней доли гипофиза кортикотропин-рилизинг-гормон взаимодействует с рецептором CRF типа 1 и активирует циклические аденозинмонофосфатные пути, а вазопрессин влияет на специальные V1b рецепторы (Smith, Vale, 2006). При этом, стимулируется синтез и выброс в кровоток адренкортикотропного гормона (АКТГ) (Oyola, Handa, 2017; Scherholz et al., 2019). За счет сниженного гематоэнцефалического барьера АКТГ может легко поступать в кровь и воздействовать на висцеральные функции, а также посредством этого гипоталамо-гипофизарно-адреналовая ось может получать обратную связь. АКТГ, в свою очередь, влияет на внутреннюю кору надпочечников, инициируя синтез и высвобождение глюкокортикоидных гормонов (кортикостерона у крыс и кортизола у людей) (Ulrich-Lai, Herman, 2009). Более того, кора надпочечников напрямую иннервируется симпатической нервной системой, что может способствовать высвобождению кортикостероидов (Ulrich-Lai, Engeland, 2005). Периферические отростки гипоталамо-гипофизарно-адреналовой оси вместе с эфферентной симпатической системой составляют периферические компоненты этой взаимосвязанной системы (Tsigos et al., 2020). Таким образом, гипоталамо-гипофизарно-адреналовая ось и симпатическая система в значительной степени взаимодополняют друг друга.

### ***1.5.2. Гормоны коры надпочечников и их синтетические аналоги***

Активация гипоталамо-гипофизарно-адреналовой оси приводит к повышению уровня циркулирующих глюкокортикоидов. Пиковые уровни глюкокортикоидов в плазме достигаются через десятки минут после начала стресса (Droste et al, 2008). Глюкокортикоиды – это стероидные гормоны пучковой зоны коры надпочечников. Обладают мощным воздействием на метаболизм, регулируя обмен белков, жиров и углеводов. В соединительной ткани глюкокортикоиды вызывают снижение числа тучных клеток, тормозят рост фибробластов. Кроме того, они способствуют усилению периферического действия на сосуды норадреналина и адреналина (Marketon, Sternberg, 2010), участвуют в широком спектре метаболических, противовоспалительных, иммунодепрессивных и когнитивных сигнальных функций (Scherholz et al., 2019), помогают поддерживать правильный баланс между провоспалительными и

противовоспалительными медиаторами, в том случае, если этот баланс нарушен серьезными инфекциями и заболеваниями (Scherholz et al., 2019).

Глюкокортикоиды могут участвовать в контроле автономных функций. Например, барорефлекс является важным механизмом регуляции артериального давления, вместе с тем известно, что системное повышение глюкокортикоидов приводит к его ослаблению (Scheuer et al., 2004). Было показано, что инъекции гидрокортизона снижают барорефлекторную чувствительность у здоровых добровольцев (Adlan et al., 2018), а введение кортизола, наоборот, быстро увеличивает его (Schulz et al., 2020). Действие глюкокортикоидов может быть периферическим и опосредоваться влиянием на барорецепторы в кровяном русле (Scheuer, Bechtold, 2002), а может быть центральным. Например, известно, что у бодрствующих крыс после длительного действия глюкокортикоидов на поверхность продолговатого мозга также наблюдалось постепенное ухудшение барорефлекторной чувствительности (Bechtold, Scheuer, 2006). Известно, что глюкокортикоидные рецепторы экспрессируются в ядре солитарного тракта и в вентролатеральной области продолговатого мозга (Herman et al., 2012; Cintra et al., 1994), там же, где расположены нейроны, формирующие цепочки барорефлекса (Wehrwein, Joynes, 2013). Рецепторы к глюкокортикоидным гормонам есть и в других структурах мозга, таких как фронтальная кора, гиппокамп, гипоталамус, гипофиз, стриатум и миндалина (Herman et al., 2012), что может говорить о прямом воздействии глюкокортикоидов на нервные структуры, входящие в состав центральной автономной сети.

Глюкокортикоидные гормоны повышают чувствительность адренорецепторов к катехоламинам, за счет чего происходит снижение в крови уровней базофилов, эозинофилов и лимфоцитов, повышение чувствительности рецепторов и возбудимости нервной системы (Burford et al., 2017). Также известно, что глюкокортикоиды широко применяются в терапевтических целях в качестве иммуносупрессоров, противовоспалительных и противоаллергических препаратов. Однако их медицинское использование может сопровождаться нежелательными побочными эффектами, поэтому прилагаются значительные усилия для улучшения их терапевтического потенциала (Reichardt et al., 2021). Например, введение глюкокортикоидного гормона дексаметазона в одной и той же дозе может оказывать как защитное – гастропротективное, так и повреждающее – проульцерогенное – влияние. Имеются данные о позитивной корреляции между стрессорным уровнем глюкокортикоидов в крови и язвообразованием в желудке (Подвигина, Филаретова, 2014). Глюкокортикоиды являются крайне успешными для замедления прогрессирования воспалительных заболеваний (рассеянный склероз, воспалительные заболевания кишечника, ревматоидный артрит и др.) и их эффективность

при лечении острого или хронического воспаления не подлежит сомнению, однако, лечение ими может сопровождаться множеством побочных эффектов, включая остеопороз, атрофию мышц и гипертонию (Reichardt et al., 2021), особенно при приеме в высоких дозах в течение длительного времени (Timmermans et al., 2019). Недавнее исследование у пациентов с ревматоидным артритом показало явно повышенный риск переломов костей, коррелирующий с приемом глюкокортикоидов (Ozen et al., 2019).

Глюкокортикоиды обладают двумя путями действия на клетки: классическим геномным (медленным) и быстрым негеномным (Oyola, Handa, 2017). Первый путь начинается с переноса глюкокортикоида через мембрану внутрь клетки с последующим связыванием гормона с цитоплазматическим белком-рецептором и поступлением этого комплекса в ядро. Взаимодействие комплекса с ядерным рецептором вызывает активацию транскрипции специфических мРНК, синтез транспортных и рибосомных РНК, процессинг первичных РНК-транскриптов и транспорт мРНК в цитоплазму, трансляцию мРНК при достаточном уровне транспортных РНК с синтезом белков и ферментов в рибосомах (Panettieri et al., 2019). Геномные ответы нейронов появляются не ранее, чем через 30 минут после предъявления глюкокортикоидов, а зачастую через час и более (Alangari, 2010; Scherholz et al., 2019).

Второй путь заключается в связывании глюкокортикоидного гормона на плазматической мембране клетки со специфическими рецепторами и активации каскадных реакций систем вторичных посредников. Вызываемые этим путем эффекты могут проявляться очень быстро, в течение нескольких минут (Alangari, 2010). Это такие эффекты, как повышение проницаемости мембран, усиление транспорта глюкозы и аминокислот, освобождение лизосомальных ферментов, сдвиги энергетики митохондрий. К глюкокортикоидным гормонам есть несколькими типов специфических рецепторов. Некоторые глюкокортикоидные гормоны могут взаимодействовать не только с одним типом рецепторов, но и с несколькими типами. Глюкокортикоидные рецепторы II типа в первую очередь регулируют противовоспалительные эффекты циркулирующего кортизола посредством ингибирования генов, участвующих в продукции провоспалительных цитокинов и других медиаторов, участвующих в иммунном ответе (Alangari, 2010). Глюкокортикоидные рецепторы I типа обладают минералокортикоидной активностью и важны для поддержания водного и электролитного гомеостаза (Harris et al., 2013).

Кроме кортизола, гидрокортизола и других естественных глюкокортикоидных гормонов существуют так же и синтетические гормоны данного класса. Последние, в свою очередь, делятся на нефторированные (преднизон, преднизолон, метилпреднизолон) и фторированные (триамцинолон, дексаметазон и бетаметазон). Полусинтетические

препараты (преднизолон, дексаметазон и др) представляют собой производные гидрокортизона, наиболее активного глюкокортикоида. Синтетические глюкокортикоиды представляют собой важный класс фармакологических средств, усиливающих или заменяющих, в случае надпочечниковой недостаточности, противовоспалительные и иммунодепрессивные свойства и физиологические действия эндогенных глюкокортикоидов (Scherholz et al., 2019).

Дексаметазон является одним из синтетических фторированных глюкокортикоидных гормонов. Он оказывает противовоспалительное, противоаллергическое десенсибилизирующее, противошоковое, антитоксическое и иммунодепрессивное действие. Особенностью его действия является значительное ингибирование функции гипофиза и практически полное отсутствие минералокортикостероидной активности, в отличие от синтетического ГК преднизолона, обладающего низкой минералокортикоидной активностью (Alangari, 2010). Дексаметазон используется фармакологически для лечения воспалений, аллергических и аутоиммунных заболеваний, лейкемии, тошноты и рвоты, среди других показаний, а также в диагностике для исследования функции оси НРА для выявления заболеваний, таких как синдром Кушинга или депрессия (Queckenberg et al., 2011). Преднизолон и метилпреднизолон обычно используются для лечения различных воспалительных и иммунных заболеваний, включая ревматоидный артрит и астму (Scherholz et al., 2019). Гидрокортизон чаще используется для заместительной гормональной терапии при надпочечниковой недостаточности из-за его двойной глюкокортикоидной и минералокортикоидной активности, которая соответствует действию эндогенного кортизола (Melin et al., 2018). Еще один синтетический препарат — дезоксикортикостерона ацетат (ДОКСА) — обладает свойствами естественного гормона коры надпочечников, является минералокортикостероидом (Whitescarver et al., 1991).

Длительность действия глюкокортикоидных гормонов на организм является разной, она может варьировать в зависимости от дозировки, длительности приема и разновидности ГК (Scherholz et al., 2019). Естественный глюкокортикоид гидрокортизон считается глюкокортикоидом короткого действия. Синтетические преднизолон и метилпреднизолон признаны препаратами средней продолжительности действия, в то время как дексаметазон оказывает пролонгированное подавляющее действие на систему гипоталамо-гипофизарно-адреналовой оси даже после введения низкой однократной дозы (Mager et al., 2003).

### ***1.5.3. Гипоталамо-гипофизарно-адреналовая ось при эндотоксинемии***

Установлено, что инъекция мышам или крысам липополисахарида вызывает активацию гипоталамо-гипофизарной оси и повышенную секрецию глюкокортикоидных



гормонов (Ericsson et al., 1994; Marketon, Sternberg, 2010). При системном воспалении происходит значительное повышение уровня кортикостерона в плазме и увеличение активности оси гипоталамус-гипофиз-надпочечники (Amorim et al., 2020). По мнению ряда авторов, реакция гипоталамо-гипофизарной оси после воздействия эндотоксина в основном обусловлена высвобождением цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-6 и ФНО) из стимулированных периферических иммунных клеток, которые, в свою очередь, стимулируют гипоталамо-гипофизарную ось (Beishuizen, Thijs, 2003; Marketon, Sternberg, 2010). Под влиянием цитокинов возможна активация НРА посредством секреции кортикотропин-рилизинг-гормона, что, в конечном счете, приводит к выработке глюкокортикоидных гормонов. У глюкокортикоидов имеется выраженное противовоспалительное действие – снижение проницаемости капилляров, секреция провоспалительных факторов, фагоцитарная активность лейкоцитов (Meduri et al., 2009). Глюкокортикоиды (кортизол у людей и кортикостерон у грызунов) являются естественными противовоспалительными агентами организма (Marketon, Sternberg, 2010). Например, усиленная выработка глюкокортикоидов у мышей делает их устойчивыми к ЛПС-индуцированному эндотоксическому шоку (Reichardt et al., 2000). Инъекция диклофенака ослабляет симптомы, вызванные введением липополисахарида, причем авторы отмечают, что наблюдаемые ими эффекты опосредованы через гипоталамо-гипофизарную ось на уровне гипофиза или выше (De La Garza et al., 2005).

Наличие рецепторов к глюкокортикоидным гормонам в различных областях ЦНС может объяснять рефлекторные ответы висцеральных систем организма на повышение уровня глюкокортикоидных гормонов. Несмотря на то, что глюкокортикоидные гормоны давно изучены, конкретные механизмы их воздействия на рефлекторные дуги и на определенные группы нейронов до конца не ясны.

## ГЛАВА 2. ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Объект исследования

Эксперименты были выполнены на самцах крыс линии Wistar, предоставленных Центром коллективного пользования «Коллекция лабораторных млекопитающих разной таксономической принадлежности» Института физиологии им. И. П. Павлова РАН (n=107). Вес животных составлял 250-350 г. До проведения экспериментов животных размещали в клетках размером 40x100 см с подстилкой из сухих опилок не более пяти особей в клетке. Количество питьевой воды и корма не ограничивалось, в рационе преобладали сухие гранулированные корма. Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены. Все процедуры, выполненные в исследовании, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации и рекомендациям Комиссии по контролю за содержанием и использованием лабораторных животных при Институте физиологии им. И.П. Павлова РАН.

Экспериментальные исследования проводили в условиях общей анестезии, в качестве анестетика использовали уретан (1,4-1,8 г/кг, внутривенно). Глубину наркоза контролировали по выраженности корнеального и болевого рефлексов. В течение всего эксперимента температуру тела животного поддерживали на уровне  $37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$  с помощью термоконтроллера (ML295/R, ADInstruments, Австралия).

### 2.2. Хирургическая подготовка животного

После достижения необходимой глубины наркоза, животное фиксировали в супинной позиции и приступали к его хирургической подготовке. В разных сериях экспериментов она имела свои особенности, которые при необходимости будут рассмотрены в методических замечаниях к соответствующим главам, но обычно предполагала различные комбинации следующих базовых процедур.

**Трахеостомия.** Прежде всего, для обеспечения свободного дыхания и регистрации пневмотахограммы в большинстве экспериментов накладывали трахеостому. Для этого проводили разрез вдоль средней линии шеи от края нижней челюсти до рукоятки грудины и тупым способом расслаивали подлежащие мышцы; выделяли и фиксировали на двух лигатурах трахею. Затем трахею надрезали ниже гортани поперек, между кольцами, приблизительно на  $1/3$  диаметра; второй надрез производили перпендикулярно первому, вдоль трахеи на два хрящевых кольца вниз. В полученный Т-образный разрез вводили трахеостомическую полиэтиленовую трубку и фиксировали её лигатурами, затем накладывали несколько швов на кожу.

**Катетеризация сосудов.** Для обеспечения регистрации артериального давления и введения растворов, катетеризировали правую бедренную артерию и бедренную вену. Для этого делали прямой разрез кожи на внутренней поверхности правого бедра от коленного сустава и далее до средней линии живота. Мышцы бедра раздвигали и выделяли нервно-сосудистый пучок в составе седалищного нерва, бедренной артерии и бедренной вены. Стеклянными крючками выделяли оба сосуда и брали их на 2-3 лигатуры. Дистальные лигатуры перевязывали, а проксимальные подтягивали для того, чтобы предотвратить утечку крови при дальнейших манипуляциях. Через надрезы в сосуды вводили полиэтиленовые катетеры, заполненные гепаринизированным (5000 МЕ/мл) физиологическим раствором и фиксировали их, перевязывая проксимальные лигатуры. Артериальный катетер имел наружный диаметр 0,2 мм и соединялся с камерой датчика АД, также заполненной гепаринизированным раствором. Венозный катетер с наружным диаметром 0,25 мм соединялся со шприцом, заполненным тем же раствором. В экспериментах с отбором образцов крови катетер устанавливали не в бедренную, а в хвостовую вену.

**Установка миографических электродов.** Для установки миографических электродов осуществляли лапаротомию по средней линии живота, последовательно разрезая кожу и мышцы по белой линии на протяжении 30-35 мм начиная от мечевидного отростка. Затем на реберной части диафрагмы справа устанавливали стальные отводящие электроды в виде крючков, соединительные провода выводили в разрез и накладывали несколько швов на мышцы и кожу, стягивая края разреза.

**Установка стимулирующих электродов.** Для подготовки к микроэлектростимуляции областей автономной коры животное переводили в prone положение и его голову закрепляли в стереотаксическом аппарате (SR-5R-HT, Narishige Scientific Instruments Lab, Япония). Удаляли кожный лоскут, открывая доступ к дорсальной поверхности черепа, при необходимости сдвигали вниз и тампонируют височные мышцы. Распатором снимали соединительную ткань на поверхности черепа, размечали и проделывали отверстие, через которое в дальнейшем погружали стимулирующий электрод. Разметку отверстия и погружение электрода производили при помощи микроманипулятора (SM-15L), используя стереотаксический атлас мозга крысы (Paxinos, Watson 1998).

### **2.3. Отбор образцов и анализ крови**

Образцы крови, предназначенные для анализа, имели объём равный 50 мкл. Их отбирали через катетер, установленный в хвостовой вене, и переносили в микроцентрифужные пробирки типа Эппендорф объёмом 1,5 мл содержавшие 250 мкл буфера с ЭДТА. Пробы крови тщательно перемешивали и анализировали в течение 2 ч

после отбора. Для определения лейкоцитарной формулы крови был использован автоматический гематологический анализатор (Abacus Junior Vet, Diatron, Венгрия). Учитывали общее количество лейкоцитов (WBC), лимфоцитов (LYM), нейтрофилов (NEUT) и моноцитов/эозинофилов (MID).

#### 2.4. Методы регистрации параметров дыхания и кровообращения

**Пневмотахография.** Для определения и регистрации параметров дыхания был использован метод пневмотахографии, при помощи которого получают пневмотахограмму (ПТГ), то есть кривую, отражающую изменения объемной скорости воздушного потока в процессе дыхания. Метод основан на измерении разности давлений на входе и выходе пневмометрической трубки Флейша (MLT10L, ADInstruments, Австралия) при помощи специального прибора, пневмотахометра (ML141), формирующего на выходе сигнал ПТГ. Сигнал ПТГ поступал на вход многоканального устройства сбора данных (PowerLab8/35). Дальнейшая обработка сигнала ПТГ при помощи пакета программ LabChart 7 обеспечивала его регистрацию и вывод на экран монитора (рис. 2.1). Кроме того, обработка сигнала ПТГ позволяла определять дыхательный объем (ДО), частоту дыхания (ЧД), минутный объем дыхания (МОД) и другие объемно-временные параметры внешнего дыхания.

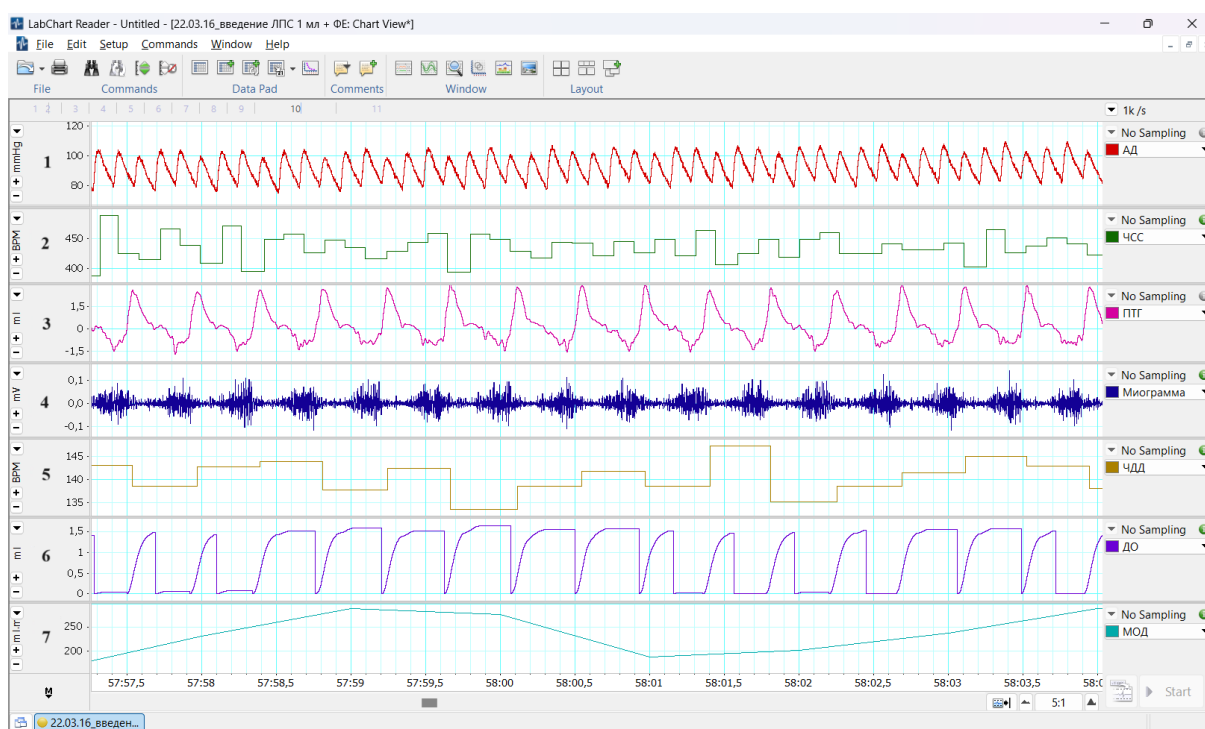


Рис. 2.1. Интерфейс программного обеспечения Lab Chart 7

1 – артериальное давление, 2 – частота сердечных сокращений, 3 – пневмотахограмма, 4 – электромиограмма диафрагмы, 5 – частота дыхания, 6 – дыхательный объем, 7 – минутный объем дыхания

**Регистрация артериального давления.** Артериальное давление определяли методом прямой регистрации. Для этого катетер, введенный в бедренную артерию, соединяли с переходной камерой датчика артериального давления (MLT1199), который соединяли с входом мостового усилителя (ML224) и перед началом эксперимента калибровали при помощи деформационного пневматического манометра (ММП-60), проградуированного в миллиметрах ртутного столба (мм рт. ст.). Сигнал АД также подавали на вход устройства сбора данных, подвергали программной обработке и выводили на экран. Кроме того, на экран выводили значения среднего АД (АД<sub>ср</sub>) и частоты сердечных сокращений (ЧСС).

**Электромиография диафрагмы.** Регистрацию электромиограммы диафрагмы (ЭМГди) использовали для определения длительности дыхательного цикла и его фаз в экспериментах с окклюзией верхних дыхательных путей, то есть в тех случаях, когда сделать необходимые измерения по ПТГ в принципе невозможно. Отводящие электроды подключали к входу усилителя биопотенциалов (FE234); сигнал ЭМГди подавали на вход устройства сбора данных и выводили на экран.

## **2.5. Методы тестирования автономных рефлексов**

**Инспираторно-тормозящий рефлекс.** Как известно, ИТР прерывает вдох вследствие усиления импульсации, исходящей из медленно адаптирующихся рецепторов растяжения лёгких. Для оценки силы ИТР в настоящем исследовании была использована методика так называемой «функциональной ваготомии» (Mortola et al., 1995; Aleksandrova et al., 2010). Она основана на том, что окклюзия трахеи в момент окончания выдоха фиксирует объём лёгких на уровне функциональной остаточной емкости, то есть при минимальной активности рецепторов растяжения лёгких. В результате при последующем (окклюзионном) «вдохе», а точнее инспираторном усилии, ИТР не запускается, что приводит к удлинению этого «вдоха», по сравнению с длительностью вдоха при свободном дыхании. Очевидно, что при большей силе ИТР этот эффект более выражен. Поэтому показателем силы ИТР служила длительность первого окклюзионного «вдоха», выраженная в процентах по отношению к длительности последнего предокклюзионного вдоха (Tirpenbach, 1995). Поскольку при окклюзии дыхательных путей движение воздуха прекращается и пневмотахограмма не регистрируется, длительность фаз дыхательного цикла определяли по ЭМГди (рис. 2.2).

**Артериальный барорефлекс.** Известно, что спонтанное или спровоцированное внешним воздействием повышение АД вызывает усиление импульсации барорецепторов, расположенных в дуге аорты и каротидном синусе, что приводит, в частности, к рефлекторному снижению частоты сердечных сокращений (Su, Miao, 2002).

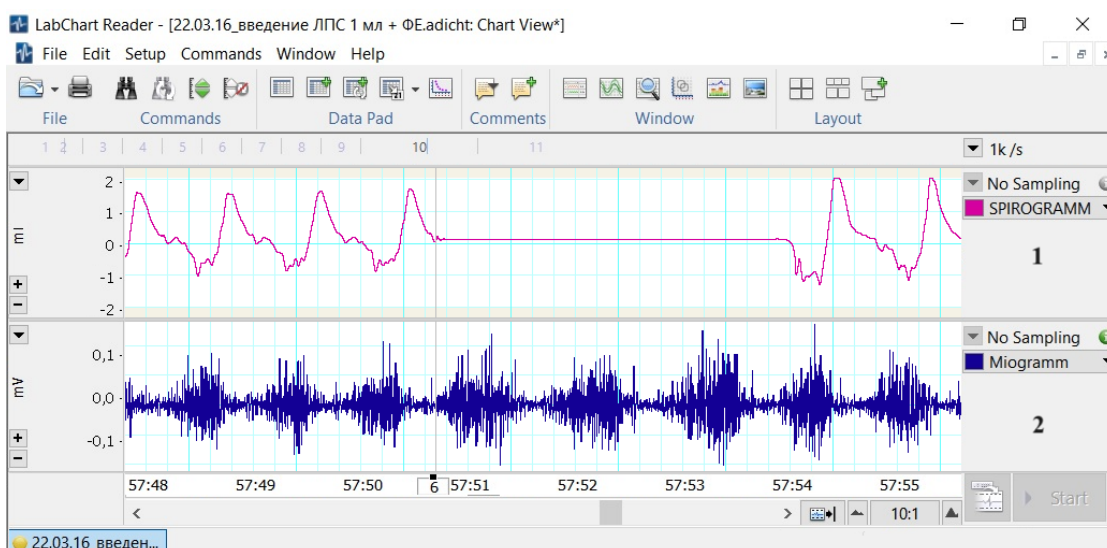


Рис. 2.2. Эффекты конечно-экспираторной окклюзии верхних дыхательных путей анестезированной крысы

1 – пневмотахограмма, 2 – электромиограмма диафрагмы.

Положительные значения на пневмотахограмме – выдох, отрицательные – вдох.

Момент окклюзии отмечен вертикальной линией.

Общепринятой мерой активности барорефлекса является барорефлекторная чувствительность, которая характеризуется показателем наклона или slopes (от англ. - *slope*) прямой, аппроксимирующей количественную зависимость между повышением АД и соответствующим снижением ЧСС (Persson et al., 2001). Величину slopes рассчитывают, как частное от деления  $\Delta\text{ЧСС}$  на  $\Delta\text{АДср}$ ; она имеет размерность  $\text{уд} \cdot \text{мин}^{-1} / \text{мм рт. ст.}$

В настоящем исследовании для тестирования БРЧ был использован вариант провокационной пробы с использованием неспецифического  $\alpha$ -адреномиметика фенилэфрина (ФЭ). При внутривенном введении ФЭ вызывает сокращение гладких мышц кровеносных сосудов, сужение их просвета, повышение периферического сопротивления и, соответственно, повышение АД (Kazimierska et al., 2019). Преимуществом ФЭ по сравнению с норадреналином и другими адреномиметиками заключается в том, что он не действует на  $\beta$ -адренорецепторы сердца и при правильном выборе дозировок не оказывает влияния на адренергические структуры центральной нервной системы. Физиологический раствор, содержащий ФЭ (ФЭ гидрохлорид, Merck, Германия) в концентрации 0,05 мг/мл, вводили в бедренную вену при помощи шприцевого насоса (AL-300, WPI, США). Объем раствора составлял 135 мкл скорость введения равнялась 45 мкл/с, время введения составляло 3с. В результате регистрировали повышение АД и АДср вследствие действия ФЭ и рефлекторное падение ЧСС (рис. 2.3). Величину slopes, количественно характеризующую БРЧ обычно рассчитывали как частное от деления  $\Delta\text{ЧСС}/\Delta\text{АДср}$ .

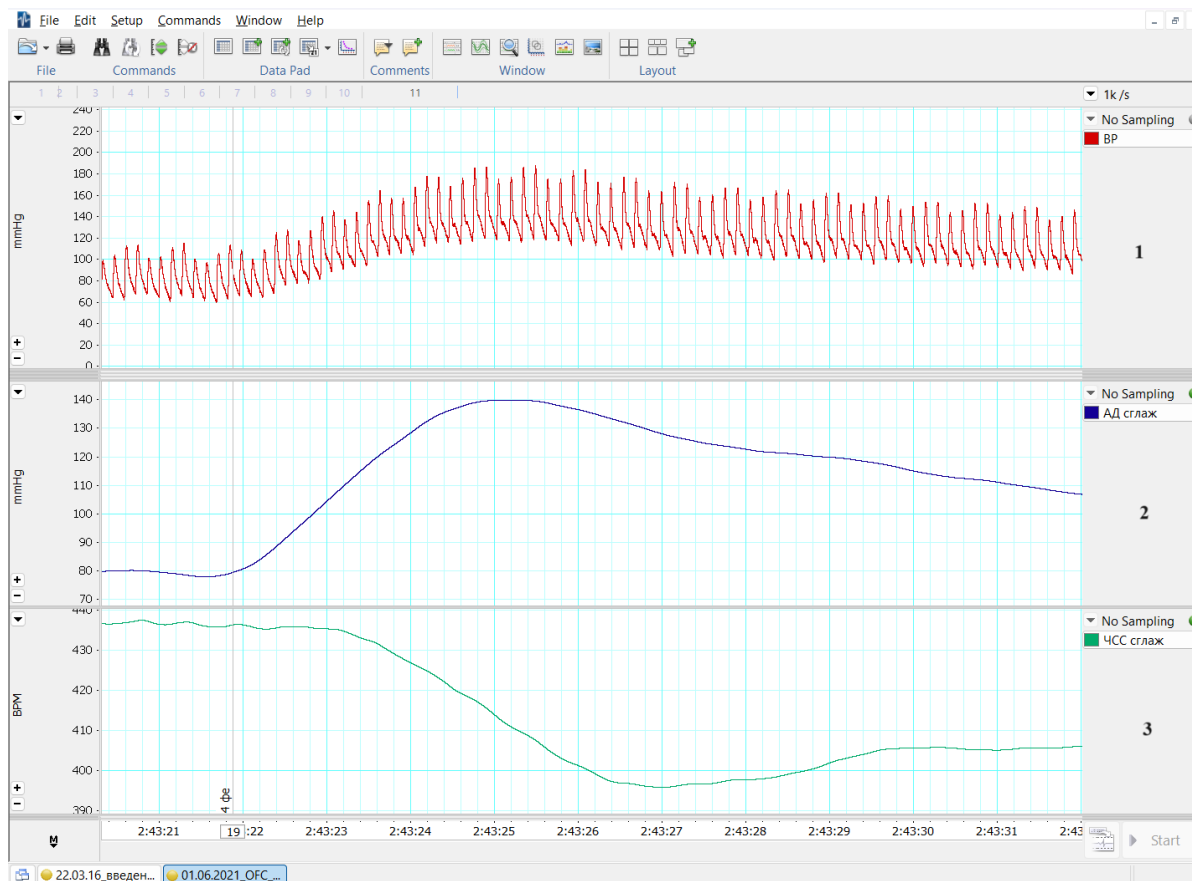


Рис. 2.3. Реакция сердечно-сосудистой системы на введение фенилэфрина.

1 – артериальное давление (нативная запись), 2 – сглаженное среднее артериальное давление, 3 – сглаженная частота сердечных сокращений. Линией обозначен момент начала введения фенилэфрина.

## 2.6. Микроэлектростимуляция коры

Для стимуляции автономных областей коры монополярный вольфрамовый электрод (TM33V01, WPI, США) вводили при помощи микроманипулятора в ИЛК или ИНС левого полушария. Координаты кончика электрода внутри ИНС были следующие: +1,5 мм роstralнее уровня *bregma*; 5,0-5,3 мм латеральнее сагиттальной плоскости; на глубине 5,0-5,5 от поверхности мозга. Для стимуляции ИЛК электрод погружали в точку с координатами +2.5 мм относительно уровня *bregma* и 0.5 мм левее сагиттальной плоскости на глубину 4 мм от поверхности мозга. Индифферентный электрод устанавливали в мышцы шеи. Кору стимулировали сериями монополярных отрицательных прямоугольных импульсов тока (150–200 мкА, длительность 1 мс, частота 50 имп/с, продолжительность серий 20 с). Импульсы генерировал изолированный стимулятор (модель 4100, A-M Systems, США), который работал в режиме фиксации тока и запускался синхроимпульсами, которые генерировало устройство сбора данных.

## 2.7. Экспериментальные протоколы

Общая продолжительность экспериментов обычно составляла 2,5-4,5 часа и менялась в зависимости от задач экспериментальной серии. Первые 30 минут обычно вели фоновую запись АД и ПТГ, периодически тестировали ИТР и/или БР, а также стимулировали кору. После записи фона вводили растворы, продолжая регистрацию АД и ПТГ, тестирование рефлексов и раздражение коры. Протоколы разных экспериментальных серий имели свои особенности, которые будут более подробно описаны в разделах «Методические замечания» соответствующих глав. В конце эксперимента животных усыпляли передозировкой анестетика. В тех экспериментах, протокол которых предусматривал электрическую микроstimуляцию висцеральных полей коры, головной мозг извлекали и фиксировали в 10%-ном формалине для последующего гистологического контроля.

## 2.8. Гистологический контроль

В 10%-ном растворе формалина мозг находился не менее 2-3 суток, после чего последовательно выдерживался в 10% и 30%-ном растворе сахарозы, приготовленном на 0,1 М фосфатном буфере для криопротекции. Через 3-5 суток мозг извлекался из раствора сахарозы. С помощью охладителя микротомы (ОЛ 30) с водяной системой охлаждения мозг замораживали и при помощи микротомы (Х) изготавливали фронтальные срезы толщиной 50-100 мкм. Затем срезы натягивали на предметные стекла и оцифровывались с помощью светового микроскопа (Альтами, СМ1040-Т) с системой визуализации (цифровая USB 3.0 камера ЕЗISPM06300КРА). Треки верифицировали путем определения наиболее вентрального положения кончика электрода и сравнения с стереотаксическим атласом мозга крысы (Paxinos, Watson, 1998) (рис. 2.4).

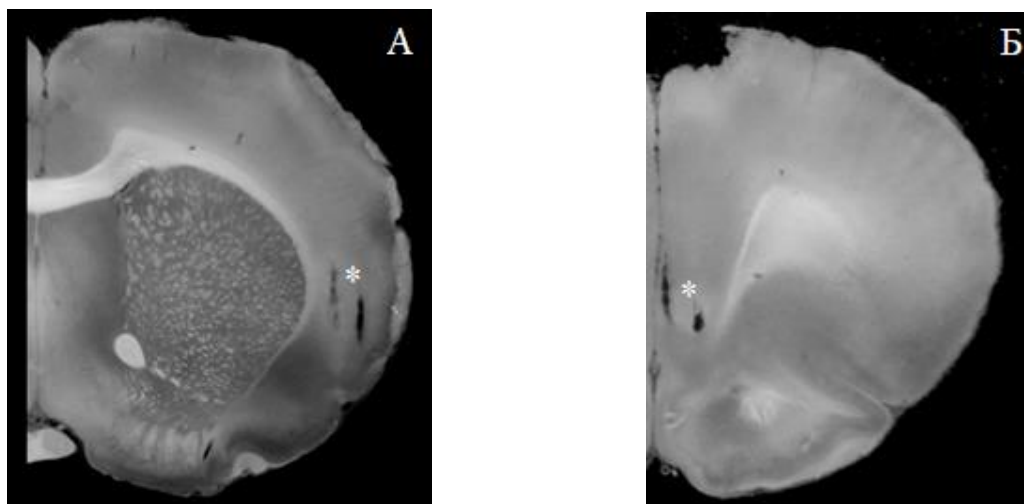


Рис. 2.4. Микрофотографии фронтальных срезов мозга с треками электродов в инсулярной (А) и инфраламбической коре (Б)

\* - треки раздражающих электродов



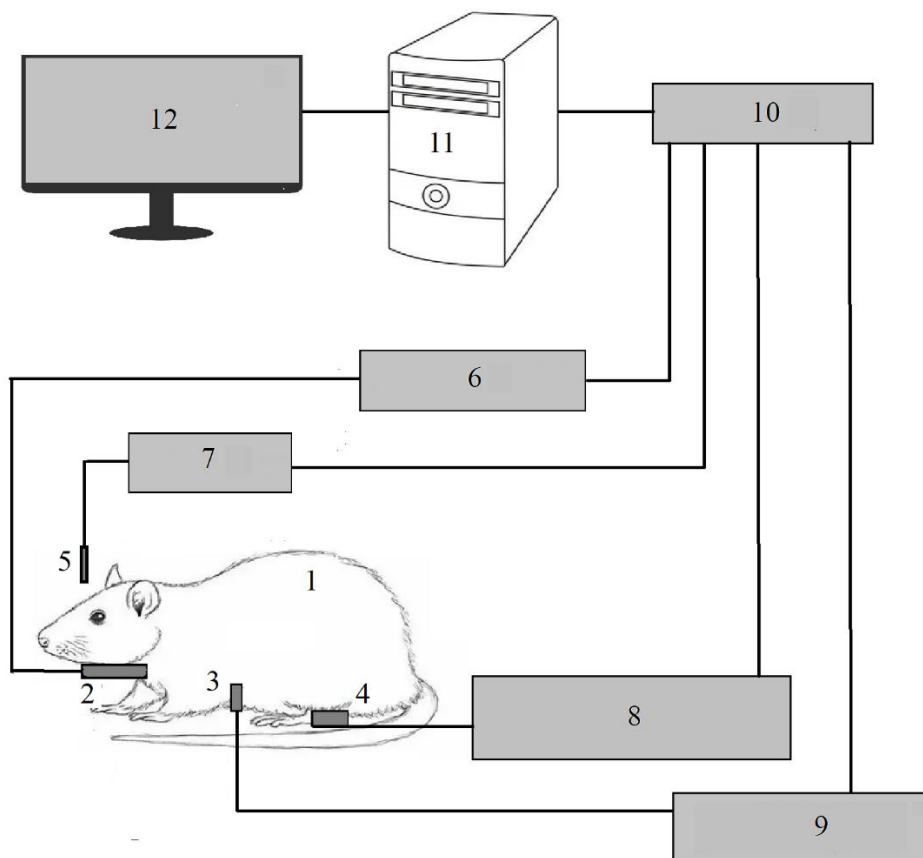


Рис. 2.5. Блок-схема экспериментальной установки

1 – объект, 2 - пневмометрическая трубка, 3 – миографические электроды, 4 - артериальный катетер, 5 – стимулирующий электрод, 6 – пневмотахометр, 7 – электростимулятор, 8 – мостовой усилитель, усилитель биопотенциалов, 10 – устройство сбора данных, 11 – персональный компьютер, 12 - монитор.

## 2.9. Аппаратно-программный комплекс

Для проведения экспериментов была использована экспериментальная установка, сформированная на основе аппаратно-программного комплекса в составе устройства сбора данных PowerLab8/35 и пакета программ LabChart 7 (рис. 2.5). Устройство сбора данных предоставляло возможность подключения широкого спектра периферийных устройств, включая упомянутые выше пневмотахометр, мостовой усилитель и усилитель биопотенциалов. Оно обеспечивало непрерывную запись данных при суммарном количестве отсчётов для всех используемых каналов  $4 \cdot 10^5/\text{с}$ , оцифрованных с глубиной 16 бит каждый. С такой же скоростью устройство производило и необходимые вычисления, включая фильтрацию шумов и компенсацию наводок. Пакет прикладных программ LabChart 7 эмулировал многоканальный самописец, позволяя сформировать до 16 каналов, отображающих как регистрируемые сигналы, так и результаты их обработки средствами пакета. В целом, использованный аппаратно-программный комплекс представлял собой интегрированную систему, функционирующую под управлением персонального

компьютера (ПК), с которым PowerLab соединяется через USB-порт. После того, как устройство сбора данных передавало их на компьютер, они становились доступными для отображения, обработки on-line, печати, хранения на твёрдом диске ПК и извлечения для повторной обработки, в том числе внешними программными средствами нахождения среднего значения и ошибки среднего применялась опция «описательная статистика».

### **2.10. Статистическая обработка экспериментальных данных**

Для количественного описания эффектов экспериментальных воздействий средствами пакета программ LabChart 7.0 производили посекундное измерение регистрируемых и рассчитываемых параметров перед началом и на фоне стимула. Полученные значения переносили в таблицы MS Excel, а затем определяли средние значения и стандартную ошибку среднего ( $M \pm SEM$  учитываемого параметра. Величину параметров после начала микроэлектростимуляции коры выражали в процентах к их значениям непосредственно перед началом раздражения. Полученные величины также усредняли и использовали при построении графиков, отражающих изменения учитываемых параметров под влиянием микроэлектростимуляции. Достоверность различий между величинами определяли, используя метод однофакторного дисперсионного анализа и непараметрические статистические методы обработки, а именно U-критерий Манна-Уитни и T-критерий Уилкоксона. Критический уровень значимости при проверке нулевой гипотезы принимался равным 0.05.

### ГЛАВА 3. ВЛИЯНИЕ ЭНДОТОКСИНА НА КОЛИЧЕСТВО И СОСТАВ ЛЕЙКОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ

Известно, что внутривенное или внутрибрюшинное введение препаратов бактериального липополисахарида является общепризнанным методическим приёмом, позволяющим моделировать эффекты эндотоксинемии в экспериментах на подвижных животных (Wong, Rodriguez, 2008; Stahl et al., 2013; Steven et al., 2017). Имеются также данные об эффектах введения ЛПС животным, находившимся под общей анестезией. В качестве анестетика в этих экспериментах использовали севофлуран (Beck-Schimmer et al., 2017), пропофол (Schläpfer et al., 2015), смесь уретана и хлоралозы (Kazerani, Furman, 2006). Эти исследования показали, что, что анестетики могут как ослаблять, так и усиливать влияние эндотоксина на различные органы и ткани. Однако они не давали прямого ответа на вопрос об адекватности рассматриваемой методики применительно к проблеме изучения нервных механизмов контроля автономных функций в острых экспериментах, поскольку анестетиком, который обеспечивает наилучшие условия для проведения подобных исследований является уретан.

Оценить адекватность методики экзогенного повышения системного уровня ЛПС применительно к планируемым экспериментам, было возможно путём оценки влияния ЛПС на базовые параметры автономных систем животных, находившихся под уретановой анестезией. В естественных условиях одним из последствий повышения системного уровня ЛПС является изменение состава и количества лейкоцитов в периферической крови, а также состояния систем кровообращения и дыхания. В частности, изменение состава и количества лейкоцитов в циркулирующей крови, разнонаправленные изменения системного артериального давления и тахикардия, а также гипервентиляция наблюдается у пациентов с системной воспалительной реакцией и сепсисом (Brown, Treacher, 2006).

Поэтому для решения первой задачи настоящего исследования, то есть для верификации адекватности экспериментальной модели, было необходимо, прежде всего, установить, позволяет ли внутривенное введение ЛПС оперированным крысам, находящимся под уретановой анестезией, воспроизвести изменение количества и состава лейкоцитов крови, подобное тому, которое развивается вследствие эндотоксинемии при СВР. При планировании экспериментов было учтено то обстоятельство, что и само по себе хирургическое вмешательство, которое в большинстве случаев является необходимым элементом острого эксперимента, способно вызывать изменение количества лейкоцитов и их состава (Handke et al., 2019).

### 3.1. Методические замечания

Дизайн исследования эффектов ЛПС на состав и количество лейкоцитов крови в условиях острого эксперимента на крысах предусматривал отбор и гематологический анализ образцов крови, проведение т.н. «ложной» операции и введение физраствора, содержащего ЛПС, или чистого физраствора. Отбор образцов и введение ЛПС производили через катетер, установленный в хвостовой вене.

#### *Гематологический анализ*

Кровь отбирали в объёме 50 мкл в пробирки Эппендорфа ёмкостью 1,5 мл, содержавшие 250 мкл буфера с ЭДТА. Пробы анализировали в течение двух часов после отбора. Всего в каждом эксперименте отбирали по 10 проб, время между отбором 1-й и 10-й составляло 4,5 часа. Для гематологического анализа белой крови использовали автоматический гематологический анализатор Abacus Junior Vet (фирма Diatron). Подсчитывали общее количество лейкоцитов, количество нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов/эозинофилов и их предшественников.

#### *Ложная операция*

В ходе так называемой «ложной» операции воспроизводили наиболее травмирующие элементы оперативной подготовки животного к острому эксперименту. Эта операция включала: продольный разрез кожи на вентральной поверхности шеи, обеспечивающий доступ к трахее; лапаротомию по средней линии живота, которую проводят для доступа к диафрагме; продольный разрез по внутренней поверхности правого бедра, который делают при выделении бедренного сосудисто-нервного пучка. На все разрезы накладывали швы.

#### *Экспериментальный протокол*

Протокол экспериментов предусматривал отбор 10 проб крови в каждом эксперименте, причем первая проба отбиралась непосредственно после установки венозного катетера, а остальные с интервалом в 30 мин; весь эксперимент, таким образом, длился 4,5 ч (рис. 3.1). По этой схеме было проведено три серии экспериментов, каждая из которых имела свои особенности. В первой серии (n=5) после взятия 1-й пробы проводилась «ложная» операция, а после 3-й пробы вводили внутривенно 1 мл физраствора. Затем отбирались остальные пробы. Во второй серии (n=5) «ложная» операция не проводилась, а после 3-й пробы вводили также внутривенно 500 мкг ЛПС (Sigma- Aldrich), растворенного в 1 мл физиологического раствора. После этого также отбирались остальные пробы. В третьей серии экспериментов (n=5) между 1-й и 2-й пробами производилась «ложная» операция, а после 3-й пробы вводили ЛПС в той же дозировке.

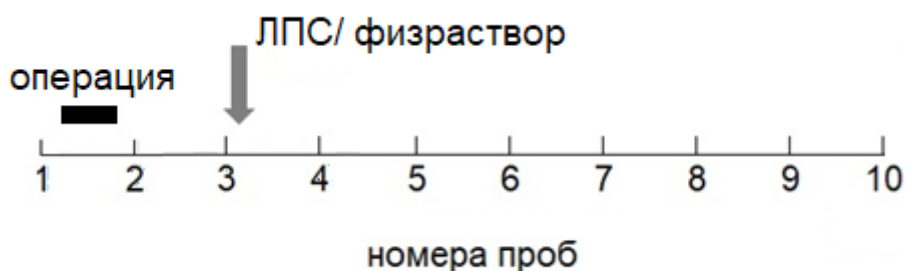


Рис. 3.1. Экспериментальный протокол.

По оси – номера проб; пробы отбирались каждые 30 минут. Тёмный прямоугольник - период проведения ложной операции в первой и третьей экспериментальных сериях, стрелка – введение ЛПС или физраствора.

## 3.2. Результаты экспериментов

### 3.2.1. Эффекты хирургического вмешательства

Общее количество всех лейкоцитов (WBS) до операции составляло в среднем  $20,74 \pm 5 \times 10^3$  кл/мкл. После операции наблюдалось постепенное увеличение этого показателя до  $37,84 \pm 4,43 \times 10^3$  кл/мкл на 120 минуте, затем некоторое снижение и стабилизация на уровне около  $30 \times 10^3$  кл/мкл до конца эксперимента (рис.3.2).

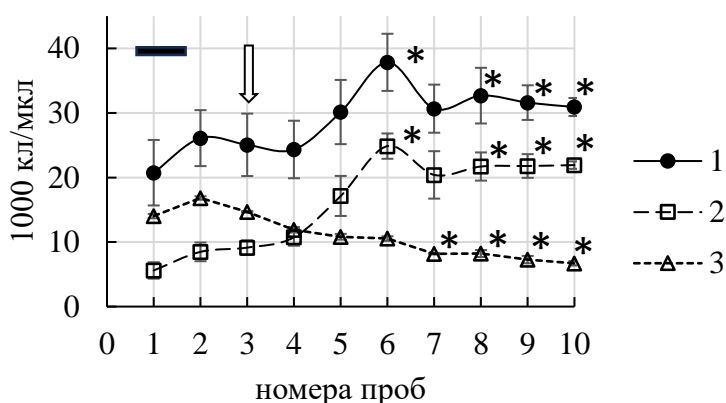


Рис.3.2 Влияние хирургического вмешательства («ложная» операция) на количество лейкоцитов разных фракций в циркулирующей крови крысы, анестезированной уретаном.

Тёмный прямоугольник – период оперативного вмешательства, светлая стрелка – введение физраствора

1 – WBS. 2 – NEUT, 3 – LYM;

\* - значение достоверно ( $p < 0,01$ ) отличается от значения в пробе №3

Количество нейтрофилов до операции равнялось  $5,6 \pm 1,27 \times 10^3$  кл/мкл. После операции NEUT также постепенно росло и через 2 часа стабилизировалось на уровне  $20-21 \times 10^6$  кл/мкл, причем этот уровень был достоверно выше исходного. Обращает на себя

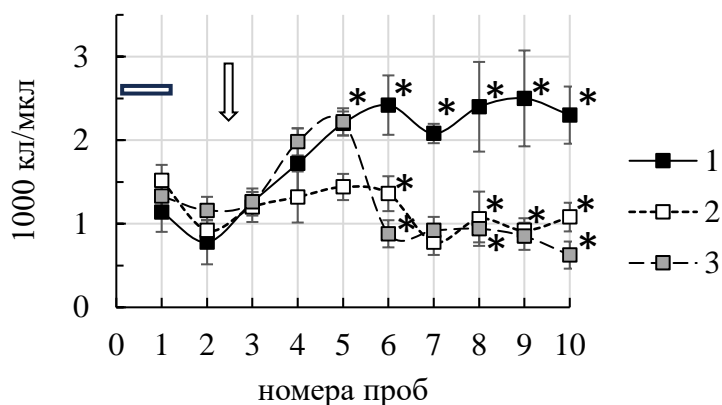


Рис. 3.3 Изменение количества лейкоцитов фракции MID в трёх экспериментальных сериях

Светлый прямоугольник – период проведения операции; стрелка – момент введения растворов.

1 – первая серия, ложная операция; 2 – вторая серия, введение ЛПС без операции; 3 – сочетание «ложной» операции и введения ЛПС.

\* - значение достоверно ( $p < 0,01$ ) отличается от значения в пробе №3.

внимание то обстоятельство, что кривые, отражающие изменения общего количества лейкоцитов и количества нейтрофилов практически параллельны. Количество лимфоцитов до операции было равно  $14,2 \pm 4,74 \times 10^3$  кл/мкл. По ходу эксперимента происходило плавное снижение LYM до  $6,7 \pm 1,12 \times 10^3$  кл/мкл на 240-й минуте. Показатель MID до операции он равнялся  $1,14 \pm 0,34 \times 10^6$  кл/мкл, в четвертой пробе он составлял уже  $1,72 \pm 0,42 \times 10^3$  кл/мкл, а концу эксперимента  $2,3 \pm 0,34 \times 10^3$  кл/мкл, то есть практически удваивался (рис.3.3). Результаты первой серии экспериментов позволили сделать вывод о том, что хирургическая подготовка животного к острому опыту в условиях уретановой анестезии вызывает лейкоцитоз. Это происходит, главным образом, вследствие подъёма уровня нейтрофилов. Кроме того, происходит существенное повышение уровня лейкоцитов фракции MID, в состав которой входят моноциты, эозинофилы и их предшественники.

### 3.2.2. Эффекты введения ЛПС условно интактным крысам

Единственной манипуляцией, которой подвергались крысы этой группы, была установка канюли в хвостовую вену. В течение первого часа до введения ЛПС показатель WBC незначительно повышался, но этот рост был в пределах статистической погрешности. Непосредственно перед введением ЛПС показатель WBC равнялся  $21,5 \pm 4,89 \times 10^3$  кл/мкл, а затем начинал снижаться. Через 90 минут после введения он составлял  $12,5 \pm 3,31 \times 10^3$  кл/мкл и на этом уровне оставался до конца эксперимента (рис. 3.4). Количество нейтрофилов в течение первого часа до введения ЛПС постепенно росло, но введение ЛПС прерывало этот рост. Непосредственно перед введением показатель NEUT

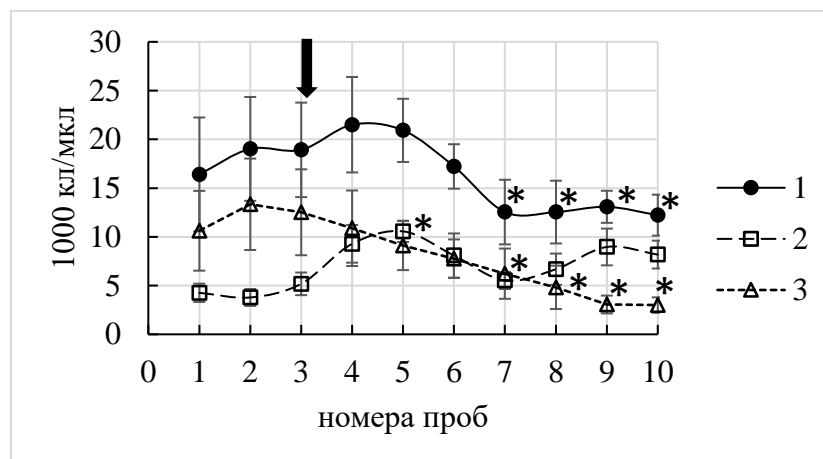


Рис. 3.4 Влияние внутривенного введения ЛПС на количество лейкоцитов разных фракций в кровотоке не оперированных крыс.

Стрелка – момент введения ЛПС

1 – WBS. 2 – NEUT, 3 – LYM;

\* - значение достоверно ( $p < 0,01$ ) отличается от значения в пробе №3

составлял  $9,3 \pm 1,93 \times 10^3$  кл/мкл, через час после введения ЛПС количество нейтрофилов снижалось до  $5,5 \pm 0,88 \times 10^3$  кл/мкл. Количество лимфоцитов в первой пробе составляло  $10,9 \pm 4,09 \times 10^3$  кл/мкл, а затем также постепенно снижалось, достигая в конце эксперимента  $3 \pm 0,79 \times 10^3$  кл/мкл. Показатель MID непосредственно перед введением составлял  $1,2 \pm 0,17 \times 10^3$  кл/мкл, в течение часа после введения проявлял тенденцию к росту, а затем возвращался к исходным значениям (рис. 3.3). Вторая серия экспериментов показала, что введение ЛПС условно интактным крысам, анестезированным уретаном, приводит к лейкопении, вследствие снижения уровня нейтрофилов, лимфоцитов и лейкоцитов группы MID.

### 3.2.3. Эффекты введения ЛПС «ложно» оперированным крысам

Общее количество лейкоцитов в 1-й пробе составляло в среднем  $18,57 \pm 3,08 \times 10^3$  клеток/мкл; при последующих измерениях этот показатель изменялся сложным образом (рис. 3.5). Так, после проведения ложной операции происходило повышение WBC (проба №2), следующее, более значительное повышение наблюдалось после введения ЛПС (проба №4), то есть через 30 минут после введения ЛПС. Начиная с пробы №6 и до конца эксперимента показатель WBC стабилизировался на уровне, достоверно более низком, чем исходный. Средняя величина показателя LYM в пробе №1 равнялась  $12,32 \pm 2,59 \times 10^3$  клеток/мкл. После оперативного вмешательства количество лимфоцитов несколько увеличивалось (проба №2), но отличие от исходных значений оказалось статистически недостоверным (рис. 3.5). В последующих пробах, а именно в пробах №3, №4 и №5 также не было обнаружено статистически значимых отличий от исходной величины. Уменьшение показателя LYM происходило после введения ЛПС, но

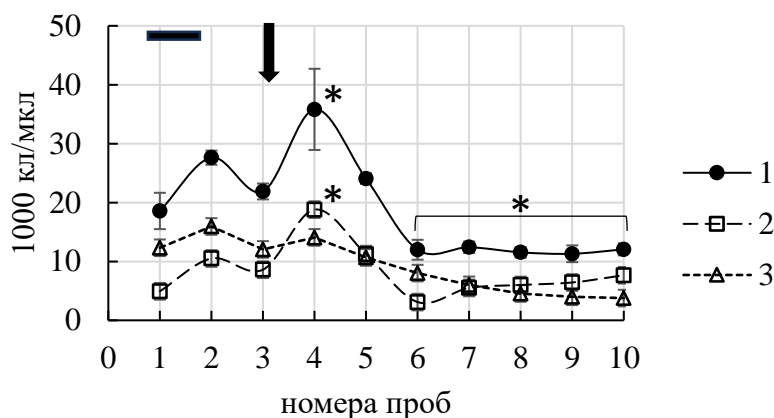


Рис. 3.5 Влияние внутривенного введения ЛПС на количество лейкоцитов разных фракций в кровотоке «ложно» оперированных крыс.

Стрелка – момент введения ЛПС

1 – WBS. 2 – NEUT, 3 – LYM;

\* - значение достоверно ( $p < 0,01$ ) отличается от значения в пробе №3

уже в пробе №6 и в дальнейшем, количество лимфоцитов продолжало снижаться, пока не стабилизировалось на постоянном уровне, начиная с пробы №8 и до конца эксперимента. Количество нейтрофилов, второй по численности фракция лейкоцитов, в пробе №1 составляло  $4,26 \pm 0,93 \times 10^3$  клеток/мкл. Показатель NEUT достоверно повышался в пробах №2 и №3, а в пробе №4 достигал максимальных значений (рис. 3.4). Затем этот показатель снижался, достигая минимума в пробе №6 и вновь постепенно повышался, превосходя к концу эксперимента (пробы №9 и №10) исходные значения. Показатель MID в пробе №1 составлял  $1,52 \pm 0,84 \times 10^3$  клеток/мкл или приблизительно 12% от общего количества лейкоцитов. Показатель MID не изменялся в первых 3-х пробах, но достоверно повышался в пробах №4 и №5 по сравнению с пробой №1 (рис. 3.4). Затем количество лейкоцитов фракции MID снижалось до значений, близких к исходным и оставалось на этом уровне до конца эксперимента. Таким образом, введение ЛПС «ложно» оперированным крысам в условиях уретановой анестезии, приводит к устойчивому уменьшению количества лейкоцитов всех групп. Первоначальное повышение количества лейкоцитов группы MID следует, по-видимому, рассматривать как результат хирургической травмы, который перекрывается эффектом ЛПС.

Сопоставляя результаты, полученные в разных сериях экспериментов, следует сделать вывод о том, что оперативное вмешательство, выполненное в условиях анестезии уретаном, имеет своим эффектом лейкоцитоз, обусловленный главным образом, существенным повышением количества нейтрофилов, а также лейкоцитов фракции MID. Напротив, конечным эффектом введения ЛПС всегда была устойчивая лейкопения, вызванная снижением количества лейкоцитов всех основных групп.



### 3.3. Обсуждение

Приступая к обсуждению результатов проведенных экспериментов, следует прежде всего отметить, что результатом оперативного вмешательства был стабильный лейкоцитоз, а результатом введения ЛПС — лейкопения. При сочетании оперативного вмешательства и введения ЛПС оперативное вмешательство стимулирует увеличение количества лейкоцитов, но введение ЛПС прерывает этот процесс и приводит к стабильной лейкопении приблизительно через 30–40 мин после введения. Таким образом, эффектом экзогенного повышения уровня ЛПС в условиях острого эксперимента на крысах, анестезированных уретаном, является устойчивая лейкопения.

При этом в наших экспериментах разные фракции лейкоцитов по-разному реагировали на экспериментальные воздействия. Количество нейтрофилов после «ложной» операции возрастало, а после введения ЛПС уменьшалось. При сочетании операции и введения ЛПС уровень нейтрофилов сначала повышается, а потом снижается. Во всех экспериментах динамика показателя NEUT соответствует динамике WBS и, по-видимому, определяет ее, поскольку динамика количества лимфоцитов во всех экспериментах была единообразной и сводилась в общем к постепенному снижению их числа по ходу эксперимента. Экспериментальные воздействия не оказывали достоверного влияния на этот процесс. Что касается клеток фракции MID, то динамика их численности была такой же, как динамика численности нейтрофилов.

Результаты проведенных экспериментов позволяют сделать несколько выводов. Во-первых, в условиях уретановой анестезии само оперативное вмешательство вызывает у крыс лейкоцитоз в результате повышения уровня нейтрофилов и, отчасти, лейкоцитов фракции MID. Во-вторых, ЛПС устраняет этот эффект и вызывает лейкопению вследствие уменьшения количества нейтрофилов. В-третьих, нейтрофильная лейкопения является основным эффектом ЛПС в указанных экспериментальных условиях. Таким образом, именно динамика нейтрофилов определяла динамику общего количества лейкоцитов во всех экспериментах.

Известно, что повышение уровня ЛПС в плазме и развитие лейкоцитоза, в основном за счет роста количества нейтрофилов, нередко происходит при различных травмах, в том числе и при хирургических вмешательствах (James et al., 1999; Черешнев и др., 2011). В то же время лимфоциты при подобных стрессовых воздействиях подвергаются апоптозу, а их количество уменьшается (Гельфанд и др., 2009). Таким образом, наши результаты, свидетельствующие о развитии нейтрофильного лейкоцитоза у ложнооперированных крыс, вполне соответствуют литературным данным.

Как уже упоминалось, динамика лейкоцитов как в ту, так и в другую сторону (лейкоцитоз и лейкопения) является одним из симптомов синдрома СВР. С другой стороны, подобные эффекты вызывает и повышение системного уровня ЛПС, которое также может вызвать повышение или понижение количества нейтрофилов у интактных и ложнооперированных животных (Altenburg et al., 1997; Галкин, Демидова, 2015). Разнонаправленность реакций нейтрофилов на ЛПС рассматривается как результат развития связанных между собой, но различных процессов, влияющих на поведение нейтрофилов. Установлено, в частности, что под влиянием эндотоксина нейтрофилы приобретают свойство гиперадгезии к эндотелию и скапливаются на внутренней поверхности сосудов (Wagner, Roth, 1999; Lerman, Kim, 2015). Результатом является так называемое «краевое стояние» нейтрофилов и уменьшение их количества в системном кровотоке. Кроме того, адгезия нейтрофилов может приводить к нарушению целостности эндотелия, что в свою очередь вызывает, высвобождение медиаторов воспаления и токсичных окислительных продуктов обмена (Hotchkiss et al., 2016). Всего существует более десятка эндогенных факторов, выделяющихся при повышении системного уровня ЛПС и изменяющих функции нейтрофилов, причем разные факторы преобладают на различных фазах развития ответной реакции организма на введение ЛПС (Wagner, Roth, 1999). Что касается лейкоцитов фракции MID, то известно, что они являются источником провоспалительных медиаторов, выделяющихся при развитии воспалительного ответа (Rudiger et al., 2008). Имеются данные об их накоплении при введении ЛПС (Castro-Faria-Neto et al., 1997).

В литературе существуют данные, которые позволяют проанализировать вопрос о влиянии анестезии на изменения лейкоцитарной формулы, происходящее в ответ на введение ЛПС. Было установлено, что в острых экспериментах на животных, находящихся под воздействием разных анестетиков, лейкопения и нейтропения являются обычными эффектами (Mathiak et al., 2000; Kao et al., 2006). Так, в одной из работ оценивалась связь между фактором некроза опухоли альфа, лейкоцитами (WBC), кортикостероном и выживаемостью подвижных животных, инъецированных различными дозами ЛПС (0,0001–28,8 мг/кг). После введения ЛПС дозозависимая лейкопения достигала максимального уровня через 2–4 ч (Feuerstein et al., 1990). В другом исследовании, посвященном действию соматотропина на иммунную систему подвижных животных, СВР моделировалась введением 5мг/кг ЛПС. Обычным эффектом ЛПС была лейкопения, однако изменения лейкоцитарной формулы могли быть различными. Наблюдалось, в частности, снижение количества лимфоцитов (лимфопения) и увеличение количества нейтрофилов (нейтрофилия) (Roelfsema et al., 2001). Снижение числа лейкоцитов при моделировании

СВР путём введения ЛПС наблюдалось и при экспериментах на анестезированных животных. В одной из работ (Mathiak et al., 2000) после анестезии раствором кетамина/ксилазина и введения ЛПС (65 мг/кг) в течение часа наблюдали снижение общего числа лейкоцитов от  $13,95 \times 10^3/\text{мкл}$  до  $5,16 \times 10^3/\text{мкл}$ . В другом исследовании (Short et al., 1999) на фоне этого же анестетика зафиксировано снижение количества нейтрофилов на 88 % в течение 30 мин после введения 1 мг/кг ЛПС. Имеются данные о влиянии ЛПС на уровень лейкоцитов, полученные в условиях острых экспериментов, которые проводились под барбитуратной анестезией (Као et al., 2006) – внутривенное введение 10 мг/кг ЛПС из *E. coli* вызывало снижение WBC на 70% от исходного уровня.

Таким образом, литературные данные свидетельствуют о том, что в условиях острых экспериментов, проводимых под общей анестезией, вызванной разными анестетиками, лейкопения и нейтропения (агранулоцитоз) являются обычным эффектом ЛПС, причём диапазон эффективных дозировок ЛПС оказался достаточно широким. Полученные нами результаты доказывают, что такой же эффект ЛПС проявляется и в острых экспериментах, выполняемых в условиях общей уретановой анестезии. Они позволяют сделать вывод о том, что введение ЛПС в системный кровоток является методическим приемом, применение которого в острых экспериментах на крысах, анестезированных уретаном, действительно позволяет воспроизвести изменения состава и количества лейкоцитов, подобные тем, которые развиваются при СВР, вызванной эндотоксинемией. Иными словами, было доказано, что в наших экспериментальных условиях экзогенное повышение системного уровня ЛПС действительно оказывает характерное влияние на количество и состав лейкоцитов крови. Следовательно, была частично решена первая задача нашего экспериментального исследования. Для окончательного решения этой задачи, то есть для завершения верификации адекватности экспериментальной модели, было необходимо в тех же экспериментальных условиях изучить влияние экзогенного повышения системного уровня ЛПС на параметры систем кровообращения и дыхания крысы. Эти эксперименты были проведены, их результаты описаны в следующей главе.

## ГЛАВА 4. ВЛИЯНИЕ ЭНДОТОКСИНА НА ЦЕНТРАЛЬНЫЕ МЕХАНИЗМЫ КОНТРОЛЯ КРОВООБРАЩЕНИЯ И ДЫХАНИЯ

Результаты экспериментов, описанных в предыдущей главе, позволили установить, что введение ЛПС крысе, анестезированной уретаном, вызывает один из известных системных эффектов эндотоксинемии, а именно изменения количества и состава лейкоцитов циркулирующей крови. С другой стороны, согласно литературным данным, введение эндотоксина бодрствующим животным приводит к изменениям параметров активности систем дыхания и кровообращения (Amorim et al., 2020; Goossens et al., 2022). Обычно эти изменения рассматривают в контексте процессов, которые развиваются в органах дыхания и кровообращения, но можно предположить, что при эндотоксинемии происходит нарушение механизмов центрального нервного контроля автономных функций. Известно, что регуляция активности систем дыхания и кровообращения основана на работе рефлекторных механизмов, в числе которых рефлексы Геринга-Брейера, реализующие объёмно-зависимую обратную связь в системе внешнего дыхания (Dutschmann et al., 2014), а также артериальный барорефлекс, регулирующий частоту сердечных сокращений в зависимости от величины артериального давления (Lavanga et al., 2017). С другой стороны, считается, что центральная автономная сеть осуществляет общий контроль автономных функций (Benarroch, 2012; Smith et al., 2017). В состав ЦАС включают несколько областей префронтальной коры, в том числе инфраламбическую кору (ИЛК), расположенную на медиальной поверхности полушария. Эту область коры рассматривают как висцеральную сенсорномоторную область; её участие в контроле дыхания и кровообращения доказано прямыми экспериментами (Aleksandrov et al., 2021). Показано, в частности, что микроэлектростимуляция ИЛК вызывает падение АД и перестройки паттерна дыхания (Fisk, Wyss, 2000; Aleksandrov et al., 2007; Kokurina et al., 2022).

На втором этапе исследования предполагалось решить три основные задачи. Во-первых, оценить возможное влияние экзогенного повышения системного уровня ЛПС на состояние систем кровообращения и дыхания анестезированного животного и тем самым окончательно доказать адекватность используемой экспериментальной модели эндотоксинемии. Во-вторых, исследовать влияние ЛПС на рефлекторные механизмы регуляции этих систем. Наконец, в-третьих, проверить гипотезу о возможном влиянии эндотоксина на способность ИЛК модулировать паттерн активности автономных систем. Решение первой задачи требовалось для ответа на вопрос о возможности изучения эффектов повышения системного уровня эндотоксина в условиях острого эксперимента. Вторую и третью задачи было необходимо решить для проверки гипотезы о возможном влиянии

эндотоксинемии на центральные механизмы контроля автономных функций. При решении первой и второй задач был использован ЛПС, выделенный из разных источников, поскольку можно было предполагать отличия в их эндотоксической активности (Туманова и др., 2020).

#### 4.1. Методические замечания

Для решения поставленных задач было разработано два экспериментальных протокола, в соответствии которыми было проведено в общей сложности 5 серий экспериментов на 23-х животных, причём в 3-х экспериментальных сериях анестезированным крысам вводили внутривенно раствор, содержащий ЛПС, а в 2-х контрольных - физиологический раствор.

*Экспериментальный протокол №1* Для решения первой и второй задач описываемой части исследования, был разработан экспериментальный протокол №1 (Рис. 4.1).

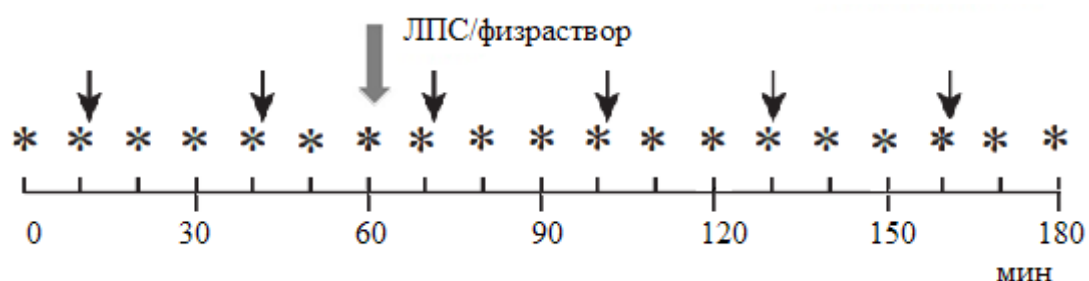


Рис. 4.1. Экспериментальный протокол №1.

По оси – время от начала регистрации, стрелки – момент введения раствора фенилэфрина с целью тестирования БР, \* - момент окклюзии верхних дыхательных путей на выдохе с целью тестирования ИТР.

Согласно этому протоколу, в течение 3-х часов производили непрерывную регистрацию АД, пневмотахограммы и электромиограммы диафрагмы. Инспираторно-тормозящий рефлекс Геринга-Брейера тестировали каждые 10 минут, БР тестировали каждые 30 минут. Введение растворов производили однократно на 60-й минуте эксперимента, сразу после очередного тестирования ИТР. В соответствии с протоколом №1 были проведены 3 серии экспериментов. В серии №1 крысам (n=12), вводили 2 мл раствора, содержавшего ЛПС, выделенный из клеток бактерии *S. typhi* (препарат «Пирогенал», пр-во «Медгамал», Россия) в дозировке 0,9 мг/кг. Животным серии №2 (n=10), вводили 1 мл физиологического раствора, содержавшего ЛПС из из клеток *E. coli* (пр-во Sigma-Aldrich, US) в дозировке 7 мг/кг. Серия №3 была контрольной, животным этой серии (n=11) вводили 1 мл физиологического раствора.

*Экспериментальный протокол №2.* Ещё один экспериментальный протокол был разработан для решения третьей задачи описываемой части исследования (Рис. 4.2).

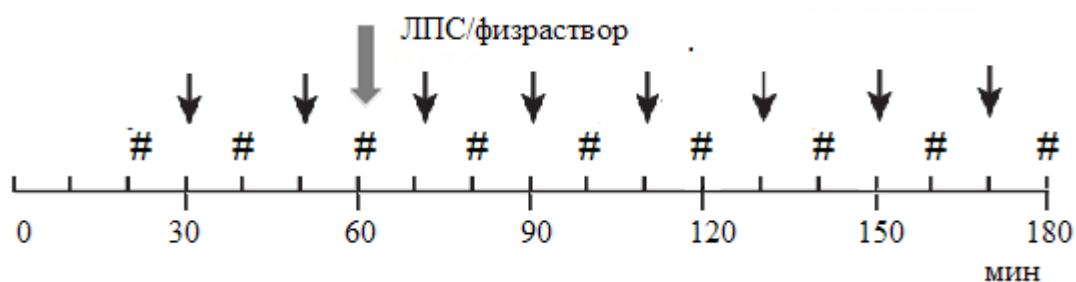


Рис. 4.2. Экспериментальный протокол №2.

По оси – время от начала регистрации, стрелки – момент введения раствора ФЭ с целью тестирования БРЧ, # - момент микроэлектростимуляции ИЛК

Этот протокол предусматривал непрерывную регистрацию в течение 3-х часов АД, тестирование БР и микроэлектростимуляцию ИЛК. Предполагалось, что изменение ответов системы кровообращения на микроэлектростимуляцию ИЛК после инфузии раствора, содержащего ЛПС, будет свидетельствовать о возможном изменении состояния ЦАС под влиянием повышенного системного уровня эндотоксина. Помимо этого, экспериментальный протокол №2 позволил оценить влияние более высоких дозировок ЛПС на систему кровообращения и БР, поскольку в серии №4 крысам ( $n=10$ ) вводили ЛПС из клеток *E. coli* (пр-во Sigma-Aldrich, US) в дозировке 40 мг/кг. Животным контрольной серии №5 вводили 2 мл физиологического раствора; вес животных, использованных в сериях 4.4 и 4.5 составлял 250-300 грамм.

Результаты, полученные в экспериментах, выполненных в соответствии с каждым из протоколов, описаны в двух последующих разделах.

## **4.2. Влияние ЛПС на параметры кровообращения и дыхания, барорефлекс и инспираторно-тормозящий рефлекс (протокол №1)**

### **4.2.1. Результаты контрольных экспериментов**

*Системные параметры кровообращения и дыхания.* В контрольных экспериментах серии №3 величина АДср на 20-й минуте эксперимента составляла в среднем  $76 \pm 4$  мм рт. ст., на 60-й  $73 \pm 3$  мм рт. ст. и различия между этими величинами были статистически недостоверны ( $p=0,220$ ). В конце эксперимента, на 180-й минуте АДср составляла  $82 \pm 4$  мм рт. ст. Расчёты показали наличие тенденции к постепенному росту АДср по ходу эксперимента ( $p=0,045$ ). Вместе с тем, не было обнаружено достоверных различий между абсолютными и нормированными величинами АДср на 20-й и 40-й минуте, то есть до введения физраствора, и его значениями после введения раствора (рис. 4.3, А). Следовательно, АДср анестезированной крысы в экспериментах этой контрольной серии было стабильным.

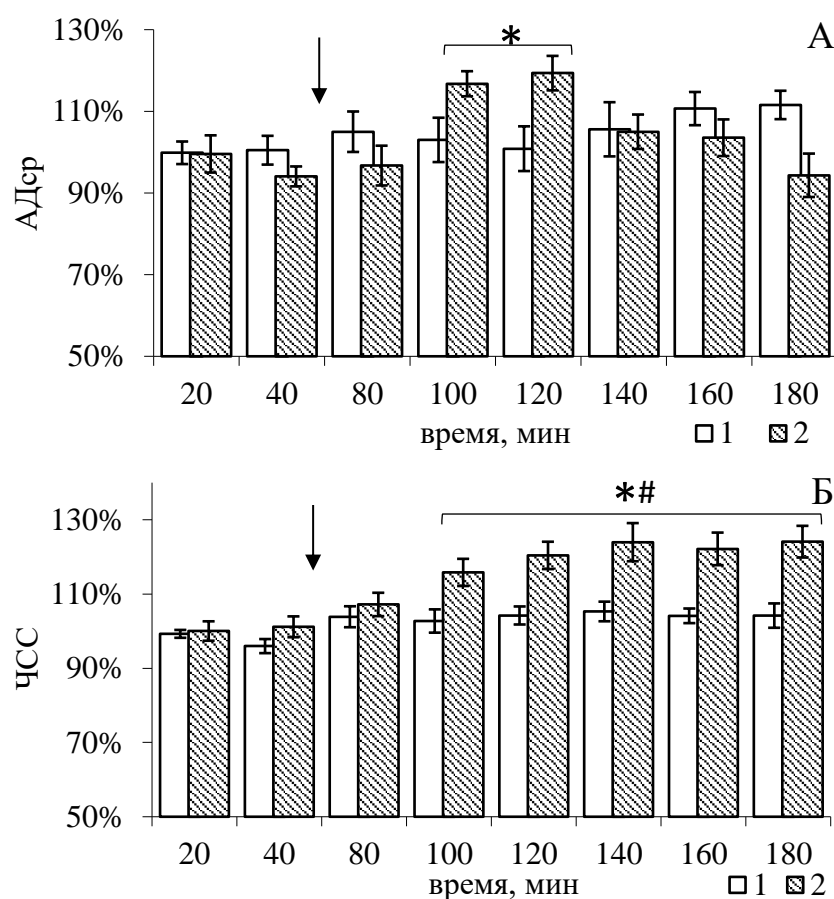


Рис. 4.3. Изменения АД<sub>сп</sub> (А) и ЧСС (Б) в экспериментальной (ЛПС *S. typhi*) и контрольной группах

По осям ординат – величина параметра, выраженная в % к его величине на 60-й минуте эксперимента, по осям абсцисс время от момента начала регистрации.

Стрелка - момент введения растворов.

# - достоверные отличия от фоновых значений при  $p < 0,05$ ; \* - достоверные отличия от фоновых и контрольных значений при  $p < 0,05$ .

1- контрольная группа, 2 – экспериментальная группа

Величина ЧСС на 20-й минуте составляла в среднем  $362 \pm 12$  уд/мин, на 60-й минуте  $385 \pm 14$  уд/мин и постепенно росла, достигая  $414 \pm 12$  уд/мин на 180-й минуте, однако этот рост оказался статистически недостоверным. Нормированные величины ЧСС также постепенно росли по ходу эксперимента (рис. 4.3, Б), но расчёты показали независимость нормированных величин ЧСС от фактора времени. Таким образом, ЧСС крысы в контрольных экспериментах также была постоянной.

Абсолютная величина ДО на 20-й минуте равнялась  $1,6 \pm 0,2$  мл, а на 60-й  $1,5 \pm 0,2$  мл и различия между этими величинами оказались статистически недостоверными ( $p = 0,805$ ). В конце эксперимента, на 180-й минуте средняя величина ДО несколько снижалась и составляла  $1,4 \pm 0,2$  мл, однако отличие этой величины от значения ДО на 60-й минуте было недостоверным ( $p = 0,50$ ). Нормированные величины ДО также несколько снижались

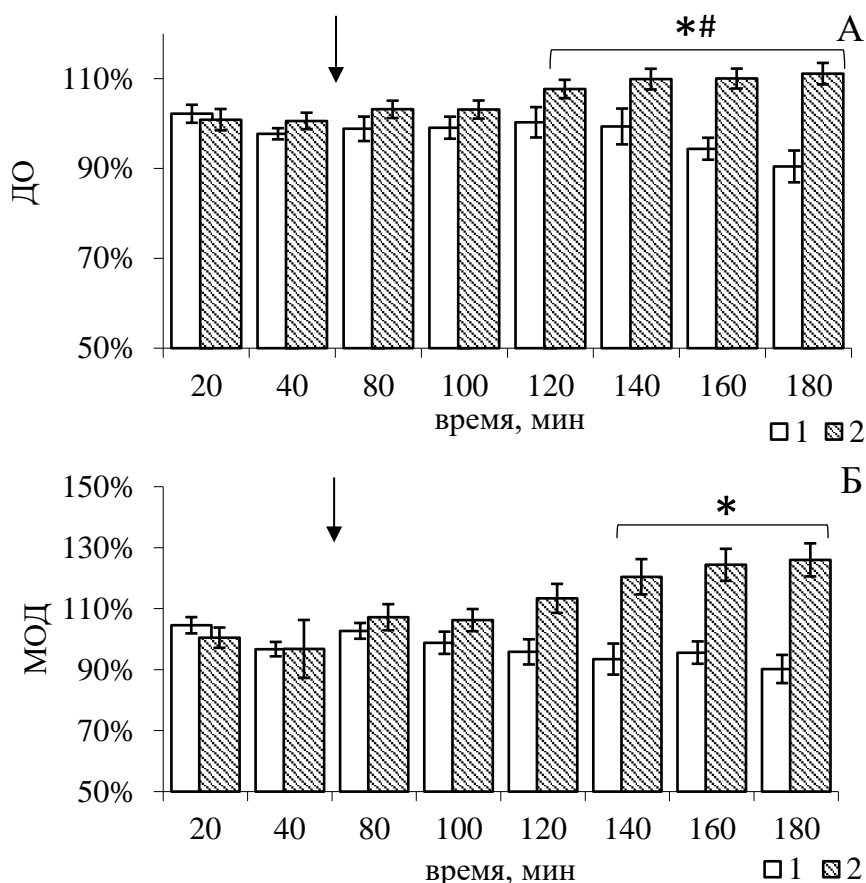


Рис. 4.4 Изменение ДО (А) и МОД (Б) в контрольных экспериментах и в экспериментах с введением ЛПС (*S. typhi*)

Обозначения соответствуют обозначениям на Рис. 4.3

к концу эксперимента (рис. 4.4, А), однако расчёты показали отсутствие зависимости от фактора времени величины нормированных ( $p=0,891$ ) и абсолютных ( $p=0,983$ ) значений ДО. На 20-й минуте ЧД анестезированной крысы составляла в среднем  $108 \pm 6$  ц/мин, на 60-й  $111 \pm 6$  ц/мин, а в конце эксперимента, на 180-й минуте,  $118 \pm 7$  ц/мин. Отличия между указанными величинами оказались статистически недостоверными. Важнейшим параметром, характеризующим состояние системы внешнего дыхания и всего организма в целом, является МОД (рис. 4.4., Б). На 20-й минуте эксперимента эта величина составляла в среднем  $168 \pm 19$  мл/мин, перед введением раствора, на 60-й минуте  $164 \pm 19$  мл/мин, а в конце эксперимента, на 180-й минуте  $164 \pm 19$  мл/мин. Различия между этими величинами оказались статистически недостоверными, а абсолютная величина МОД не зависела от фактора времени ( $p=0,99$ ). Такие же результаты дало и сравнение нормированных величин: ДО был стабилен, ЧД проявляла тенденцию к росту, но уровень вентиляции сохранялся постоянным в течение всего эксперимента.



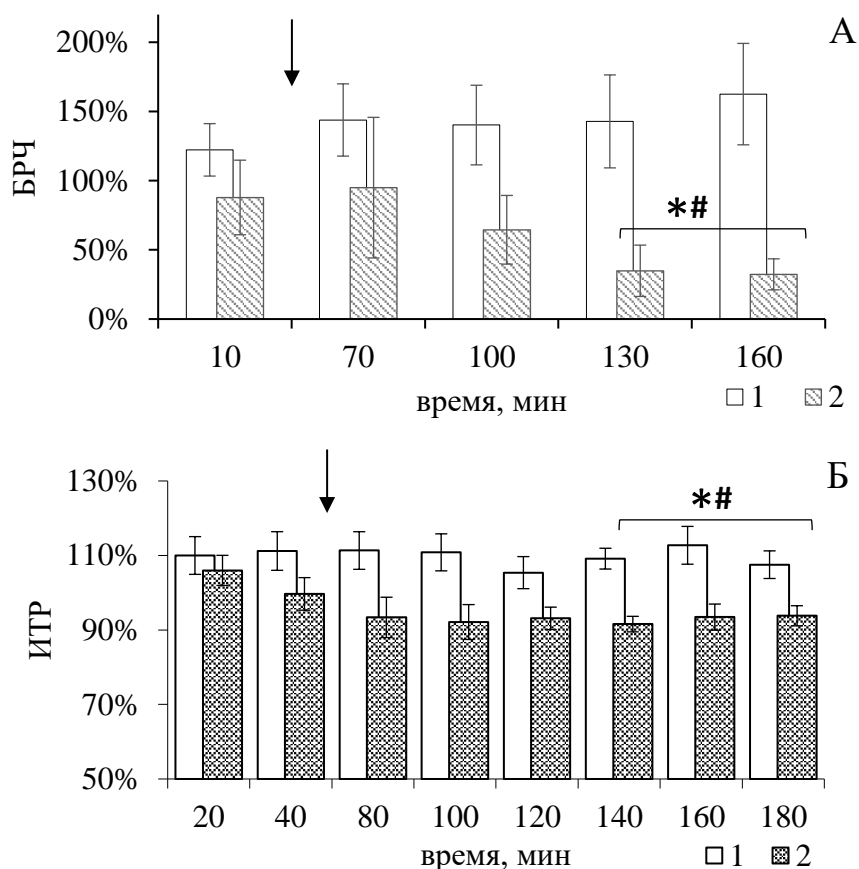


Рис. 4.5 Изменение силы БР (А) и ИТР (Б) в контрольных экспериментах и в экспериментах с введением ЛПС из *S. typhi*.

По осям ординат: на А – величина показателя БРЧ, выраженная в % к его величине на 40-й минуте эксперимента; на Б – величина показателя силы ИТР, выраженная в % к его величине на 60-й минуте эксперимента.

Прочие обозначения – как на предыдущих рисунках.

*Рефлекторные механизмы контроля кровообращения и дыхания.* Абсолютная величина показателя БРЧ на 10-й минуте составляла  $1,9 \pm 0,4$ , на 40-й равнялась  $1,6 \pm 0,3$ , разница между этими величинами недостоверна ( $p=0,409$ ), так же, как и разница между БРЧ на 40-й и 160-й минуте, когда она равнялась  $2,1 \pm 0,6$  уд·мин<sup>-1</sup>/мм рт. ст. ( $p=0,432$ ). Величина БРЧ на 40-й минуте принималась за 100% при нормировании показателя БРЧ и построении графиков (рис. 4.5, А). Было установлено отсутствие достоверных изменений абсолютных ( $p=0,964$ ) и нормированных ( $p=0,802$ ) величин БРЧ по ходу эксперимента. Показатель силы ИТР на 60-й минуте контрольного эксперимента составлял в среднем  $128 \pm 3\%$ , то есть длительность первого постокклюзионного «вдоха» была больше длительности последнего вдоха перед окклюзией на 28%. Расчёты показали отсутствие достоверной зависимости этого показателя от фактора времени ( $p=0,367$ ). При построении графиков величина

показателя силы ИТР на 60-й минуте принималась равной 100% (Рис. 4.5, Б). Величина нормированного показателя силы ИТР также не изменялась во времени ( $p=0,535$ ).

Полученные результаты показали, что в контрольных экспериментах серии №3 состояние систем кровообращения и дыхания оставалось стабильным на протяжении 3-х часов и вливание физиологического раствора на 60-й минуте эксперимента не оказывало на них заметного воздействия. Стабильным было и состояние рефлекторных механизмов этих систем.

#### **4.2.2. Эффекты ЛПС выделенного из *S. typhi***

*Системные параметры кровообращения и дыхания.* Эксперименты с введением раствора, содержавшего ЛПС, выделенного из клеток *S. typhi* показали, что на 60-й минуте регистрации, то есть непосредственно перед введением, АДср равнялось в среднем  $82\pm 7$  мм рт. ст. Через 40 минут после введения наблюдалось статистически значимое увеличение величины АДср по сравнению с его фоновыми показателями, которое сохранялось и на 120-й минуте (рис. 4.3, А). На 140-й минуте АДср возвращалась к исходным величинам, и в дальнейшем не отличалась от значений, полученных в контрольных экспериментах. Средняя величина ЧСС на 60-й минуте в этой серии экспериментов составляла  $396\pm 11$  уд/мин. Начиная с 100-й минуты происходил рост этого показателя и до конца эксперимента ЧСС оставалась выше фоновых и контрольных значений (рис. 4.3, Б). Эти результаты свидетельствуют о том, что ЛПС при его внутривенном введении анестезированному животному оказывал влияние на систему кровообращения, вызывая преходящее повышение АДср и рост ЧСС. Оба эффекта начинали проявляться через 40 минут после введения ЛПС.

Средняя величина ДО на 60-й минуте эксперимента составляла  $1,8\pm 0,1$  мл; ЛПС вызывал статистически значимое увеличение ДО, которое развивалось, начиная со 120-й минуты эксперимента, то есть через 60 минут после введения вещества (рис.4.4, А). Вместе с тем, ЛПС не вызывал статистически значимых изменений ЧД, которая на 60-й минуте эксперимента составляла в среднем  $123\pm 6$  ц/мин. В результате если МОД в контрольной серии экспериментов был стабильным, то в экспериментах с введением ЛПС он увеличивался, начиная со 120-й минуты и достоверно превышал фоновые и контрольные значения вплоть до конца эксперимента (рис.4.4, Б).

*Рефлекторные механизмы контроля кровообращения и дыхания.* Тестирование БР в экспериментах с введением ЛПС показало, что начальные значения БРЧ, определенные до введения раствора, на 40-й минуте эксперимента, составляли в среднем  $1,4\pm 0,4$  уд·мин<sup>-1</sup>/мм рт. ст. При дальнейших расчётах величину БРЧ, измеренная на 40-й минуте, принимали за 100%. Под влиянием ЛПС происходило достоверное ослабление

барорефлекса (рис.4.5, А), при том, что в контрольных экспериментах БРЧ была стабильной. Достоверное снижение БРЧ было зафиксировано в конце эксперимента, на 130-й и 160-й минутах, то есть через 70 минут после введения ЛПС. Начальное значение показателя силы ИТР в этой серии экспериментов равнялось в среднем  $146 \pm 3\%$ , и эта величина принималась за 100% при дальнейших расчётах (Рис. 4.5, Б). Было установлено, что сила ИТР уменьшалась до величины, статистически достоверно отличавшейся от фоновых и контрольных значений через 60 минут после введения, и оставалась на этом уровне до конца эксперимента.

Таким образом, через 40 минут после введения анестезированным крысам раствора, содержащего ЛПС, выделенный из клеток из клеток *S. typhi*, начиналось повышение АДср. Продолжительность этого эффекта была около 20 минут. Затем АДср возвращалось к исходным значениям. Повышение ЧСС, которое также было зафиксировано через 40 минут после введения ЛПС сохранялось до конца эксперимента. Введение ЛПС приводило к снижению БРЧ и ослаблению ИТР, причём эти процессы развивались вплоть до конца эксперимента.

#### **4.2.3. Эффекты ЛПС выделенного из *E. coli***

*Системные параметры кровообращения и дыхания.* В экспериментах с введением ЛПС, выделенного из *E. coli*. средняя величина АДср на 60-й минуте эксперимента, то есть перед введением ЛПС, составляла  $82 \pm 7$  мм рт. ст. Уже через 20 минут после введения ЛПС наблюдалось увеличение АДср по сравнению с его исходными показателями (рис. 4.6, А). Этот эффект сохранялся на 100-й и на 120-й минуте эксперимента. Затем значения АДср возвращались к исходным величинам, и не отличались от значений, полученных в контрольных экспериментах. В этой серии экспериментов средняя величина ЧСС на 60-й минуте равнялась  $387 \pm 11$  уд/мин и эта величина принималась за 100% при дальнейших расчётах и построении графиков (рис. 4.6, Б). Через 20 минут после введения ЛПС начиналось увеличение ЧСС по сравнению с фоновыми и контрольными значениями. Этот показатель оставался выше фоновых и контрольных значений до конца эксперимента; на 180-й мину средняя величина ЧСС равнялась  $457 \pm 5$  уд/мин, что достоверно выше фонового значения на 60-й минуте и контрольного значения на 180-й минуте. Величина ДО на 60-й минуте эксперимента равнялась  $1,7 \pm 0,1$  мл. После введения ЛПС начинался рост ДО и, начиная с 100-й минуты эксперимента, величина ДО была достоверно выше фоновых и контрольных значений (рис. 4.7, А). На 60-й минуте эксперимента ЧД равнялась  $131 \pm 6$  ц/мин, достоверных изменений этого показателя по ходу эксперимента обнаружено не было. В результате, величина МОД, которая на 60-й минуте эксперимента составляла

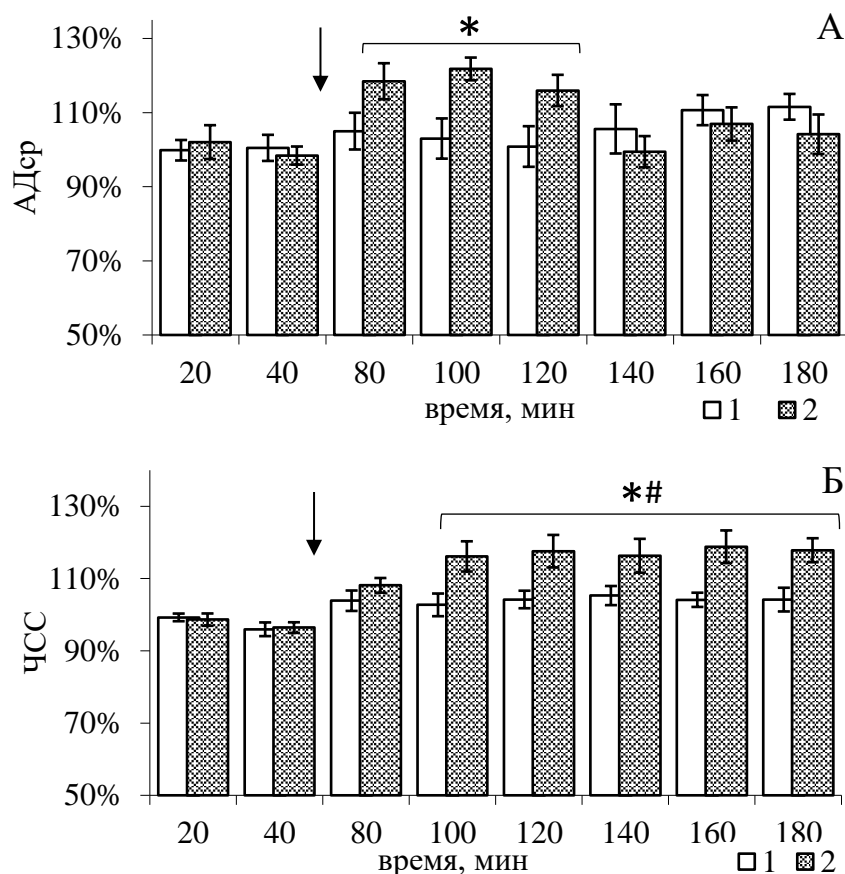


Рис.4.6 Изменения АДср (А) и ЧСС (Б) в экспериментальной (ЛПС из *E. coli*) и контрольной группах

Обозначения соответствуют обозначениям на предыдущих рисунках.

217±12 мл/мин, после введения ЛПС постепенно увеличивалась вследствие роста ДО (рис. 4.7, Б).

*Рефлекторные механизмы контроля кровообращения и дыхания.* На 40-й минуте эксперимента с введением ЛПС из *E. coli* величина БРЧ равнялась 2,2±0,4 уд·мин<sup>-1</sup>/мм рт. ст. В следующем тесте, на 70-й минуте, то есть через 10 минут после введения ЛПС, величина БРЧ оставалась на том же уровне, но через 40 минут после введения ЛПС БРЧ начинала снижаться и оставалась до конца эксперимента на уровне 25-30% от первоначальной величины (рис. 4.8, А). Показатель силы ИТР на 60-й минуте составлял 139±5%. После введения ЛПС этот показатель снижался и оставался на достоверно более низком уровне до конца эксперимента (рис. 4.8, А).

Эксперименты показали, что введение анестезированным крысам ЛПС, выделенного из клеток *E. coli* вызвало повышение АДср, которое продолжалось около 60 минут; затем АДср возвращалось к исходной величине. Помимо АДср, повышалась ЧСС, но этот эффект сохранялся до конца эксперимента. Под влиянием ЛПС происходило снижение БРЧ и ослабление ИТР.

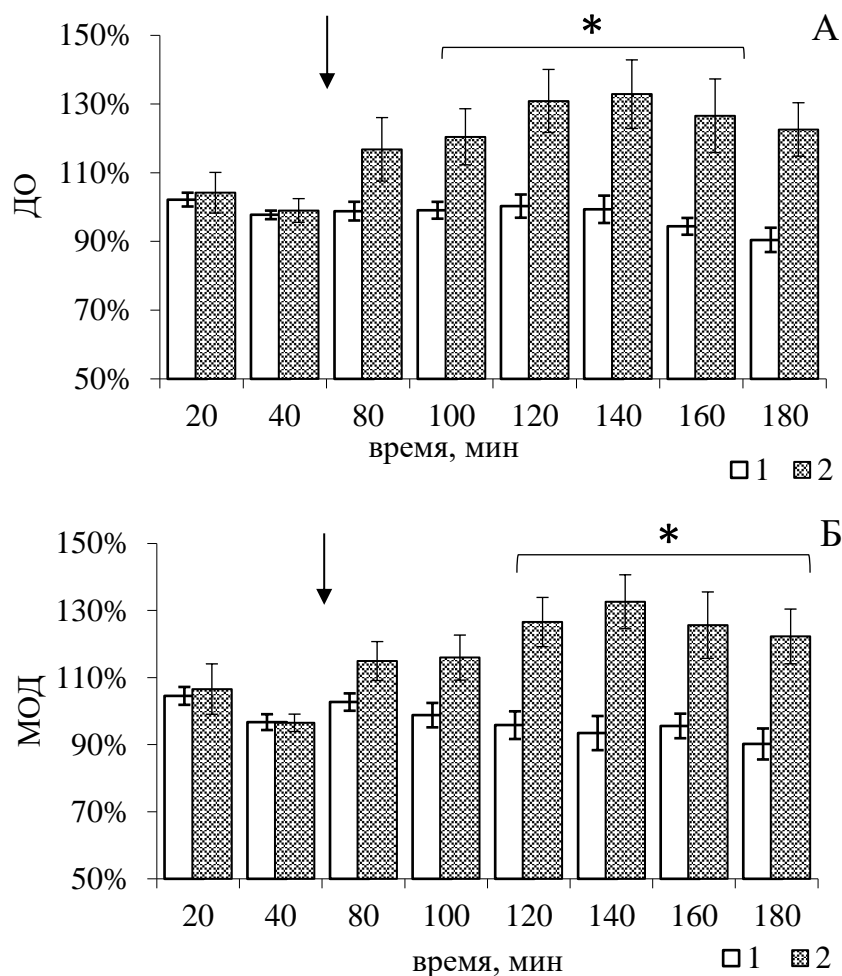


Рис. 4.7 Изменение ДО (А) и МОД (Б) в контрольных экспериментах и в экспериментах с введением ЛПС из *E. coli*

Обозначения соответствуют обозначениям на предыдущих рисунках.

Резюмируя результаты, полученные в экспериментах, выполненных по протоколу №1 следует прежде всего отметить, что ЛПС, выделенный из разных источников, вызывал преходящее повышение АДср. Достоверное увеличение АДср по сравнению с фоновыми и контрольными величинами наблюдалось через 20-40 мин после введения раствора, содержащего ЛПС, через 60 минут АДср снижалось до исходного уровня. Кроме того, через 40 минут после введения ЛПС наблюдалось достоверное повышение ЧСС, но этот эффект с течением времени не ослабевал и ЧСС оставалась на достигнутом уровне до конца эксперимента. Система внешнего дыхания реагировала на экзогенное повышение системного уровня ЛПС увеличением ДО и, соответственно МОД; этот эффект проявлялся через 60-80 минут после введения вещества и сохранялся до конца эксперимента. Достоверных изменений частоты дыхания обнаружено не было. В обеих сериях экспериментов наблюдалось ослабление БРЧ и силы ИТР. Оба этих эффекта развивались через 60-80 минут после вливания ЛПС и сохранялись до конца эксперимента.

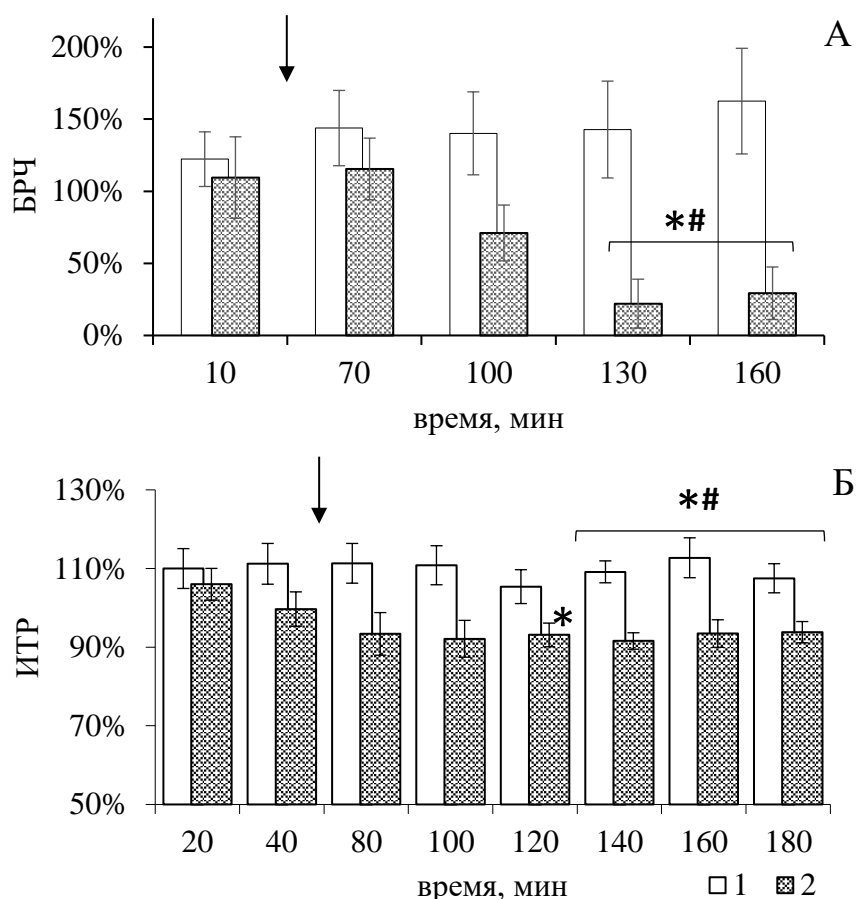


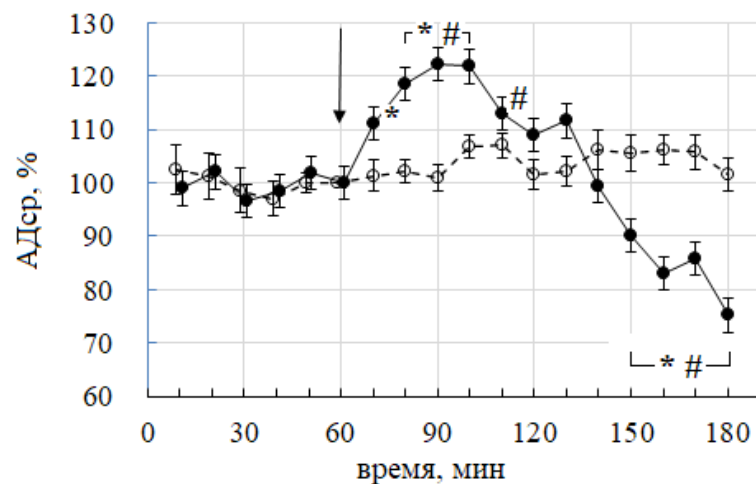
Рис. 4.8. Изменение силы БР (А) и ИТР (Б) в контрольных экспериментах и в экспериментах с введением ЛПС из *E. coli*.

По осям ординат: на А – величина показателя БРЧ, выраженная в % к его величине на 40-й минуте эксперимента; на Б – величина показателя силы ИТР, выраженная в % к его величине на 60-й минуте эксперимента. Прочие обозначения – как на предыдущих рисунках.

#### 4.3. Влияние ЛПС на барорефлекс и эффекты стимуляции ИЛК (протокол №2)

Эксперименты, выполненные в соответствии с протоколом №2 показали, что до введения растворов средняя величина АДср не отличалась в контрольной и экспериментальной группах и до введения растворов не претерпевала статистически значимых колебаний внутри групп. Непосредственно перед введением растворов она составляла  $96 \pm 5$  мм рт. ст. в контрольной и  $94 \pm 6$  мм рт. ст. в экспериментальной группе, различия между этими величинами оказались статистически недостоверными ( $p=0,88$ ). В контрольной группе не было зафиксировано статистически значимых изменений АДср после введения физиологического раствора ( $p=0,99$ ). Введение ЛПС приводило к увеличению АДср, которое достигало максимальной величины через 30-40 минут после введения, достоверно отличаясь как от фоновых, так и от контрольных значений (рис. 4.9, А). Затем этот эффект постепенно ослабевал, АДср начинало падать. Через 90 минут после введения ЛПС величина АДср была достоверно ниже исходных и контрольных

А



Б

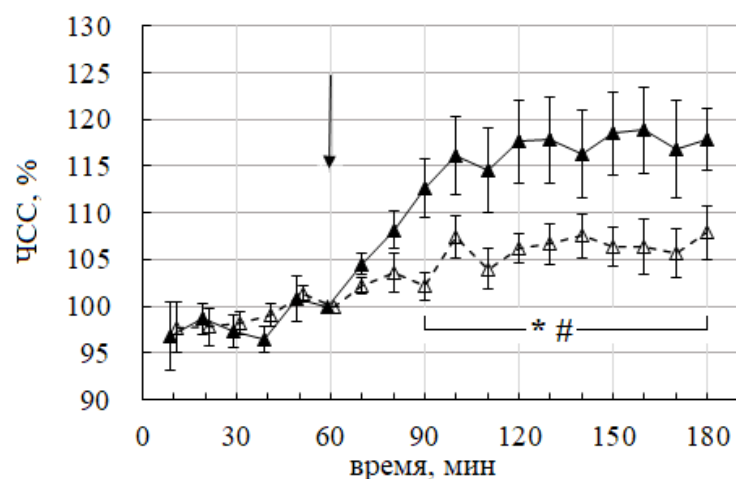


Рис.4.9 Динамика АДср (А) и ЧСС (Б) в экспериментах с введением ЛПС из *E.coli* (темные маркеры) и физиологического раствора (светлые маркеры).

АДср и ЧСС выражен в процентах к их величине на 60-й минуте эксперимента.

\* - значение параметра в экспериментальной группе достоверно ( $p < 0,05$ ) отличается от значения в контрольной группе; # - значение параметра в экспериментальной группе достоверно ( $p < 0,05$ ) отличается от фоновых значений.

Стрелки указывают момент введения растворов

значений и продолжала уменьшаться до конца эксперимента. Фоновые значения ЧСС в контрольной и экспериментальной группах не проявили достоверных различий. Непосредственно перед введением физиологического раствора средняя величина ЧСС составляла  $391 \pm 15$  уд/мин, а перед введением ЛПС  $365 \pm 32$  уд/мин и эти различия оказались недостоверными ( $p = 0,097$ ). Рост ЧСС имел место как в контрольной, так и в экспериментальной группе, однако в экспериментальной группе он происходил быстрее, чем в контрольной (рис. 4.9, Б). В контрольной группе ЧСС росла до 100-й минуты регистрации, а затем стабилизировалась. Через 30 минут после введения ЛПС этот параметр был больше соответствующей величины в контрольной группе ( $p = 0,013$ ) и в

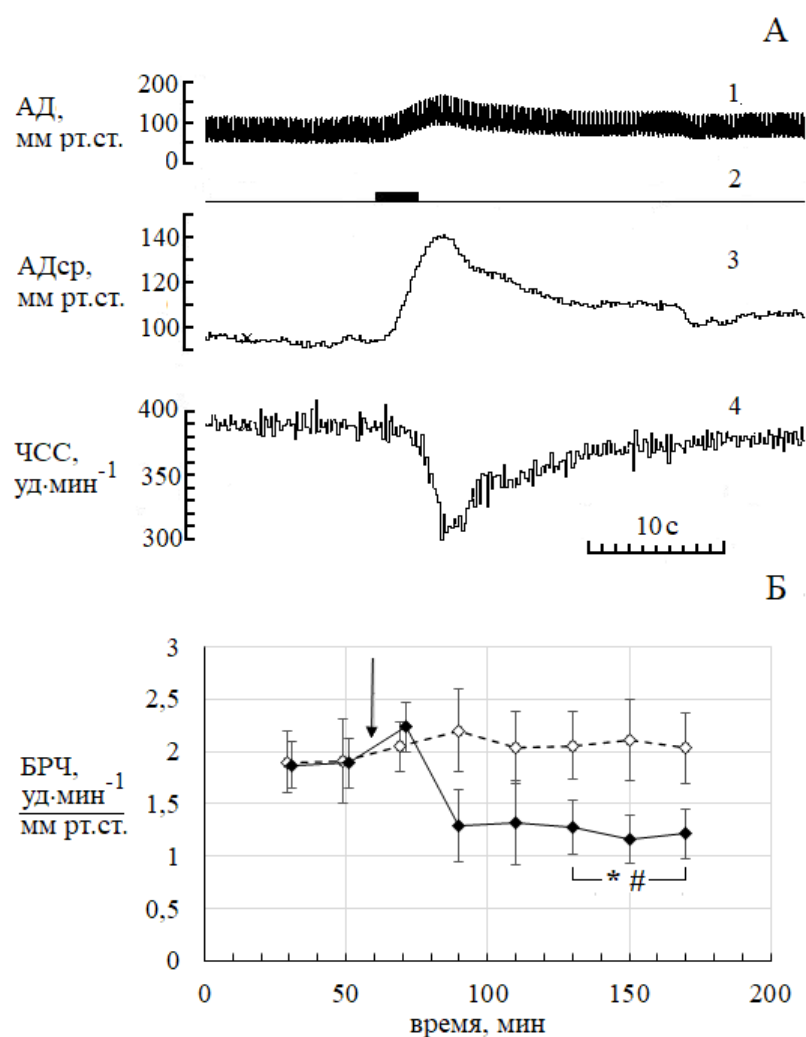


Рис. 4.10. Эффект введения ФЭ (А) и изменение БРЧ под влиянием ЛПС (Б).

1 – запись АД, 2 – отметка введения ФЭ, 3 – изменение АДср, 4 – изменение ЧСС.

\* - значение параметра в экспериментальной группе достоверно (при  $p < 0.05$ ) отличается от значения в контрольной группе; # - значение параметра в экспериментальной группе достоверно (при  $p < 0.01$ ) отличается от фоновых значений

Светлые значки - контрольные эксперименты, тёмные значки- эксперименты с ЛПС

Стрелкой отмечен момент введения растворов.

дальнейшем оставался на достигнутом уровне, не обнаруживая тенденции к снижению. Относительные величины ЧСС, зарегистрированные в экспериментальной серии в каждый момент времени после введения ЛПС, оказались достоверно выше фоновых и соответствующих контрольных величин. Таким образом, и в этой экспериментальной серии ЛПС вызывал снижение АДср и повышение ЧСС анестезированных крыс. Оба эти эффекта сохранялись до конца эксперимента.

При тестировании БРЧ введение ФЭ вызывало повышение АД и рефлекторное снижение ЧСС (Рис. 4.10, А). При введении ФЭ на 50-й минуте АДср увеличивалось на  $40 \pm 2$  мм рт. ст.  $40 \pm 2$  мм рт. ст. в контрольной группе и на  $45 \pm 3$  мм рт. ст. в группе с введением ЛПС. В ответ на повышение АД происходило снижение ЧСС, соответственно



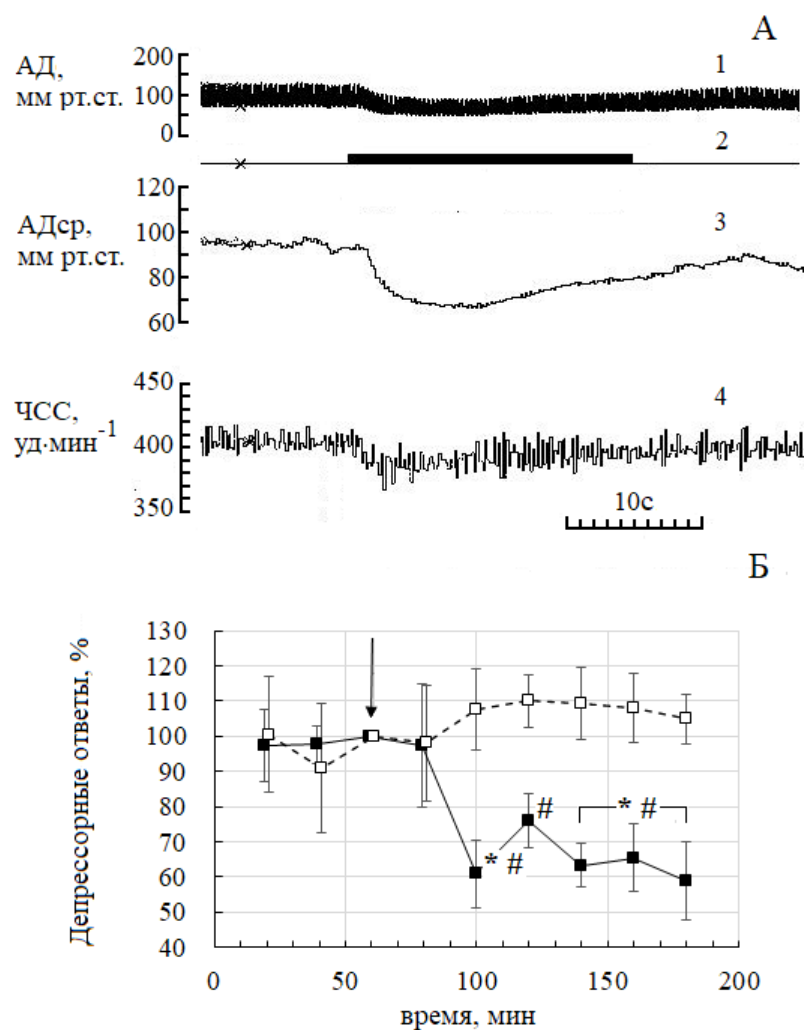


Рис. 4.11 Реакция системы кровообращения на электрическую микроstimуляцию ИЛК и влияние ЛПС на эту реакцию.

А – ответ системы кровообращения на электрическую микроstimуляцию ИЛК, Б – изменение амплитуды

1 – нативная запись АД; 2 - отметка раздражения; 3 – АДср; 4 – ЧСС.

Б – изменение амплитуды депрессорных ответов на стимуляцию ИЛК.

Величина депрессорных ответов выражена в процентах к их величине на 60-й минуте эксперимента.

Прочие обозначения как на рис. 4.10

на  $79 \pm 15$  уд/мин и  $85 \pm 15$  уд/мин. Тестирование БРЧ на 50-й минуте эксперимента показало, что значения индекса, характеризующего величину БРЧ, рассчитанные по описанной выше методике, составляли в контрольной группе  $1.90 \pm 0.40$  уд·мин<sup>-1</sup>/мм рт.ст., а в экспериментальной  $1,89 \pm 0.23$  уд·мин<sup>-1</sup>/мм рт.ст., то есть практически совпадали (Рис. 4.10, Б). В контрольных экспериментах не наблюдалось достоверных изменений БРЧ. Вместе с тем, БРЧ достоверно снижалась через 30 минут после введения ЛПС и оставалась ниже фоновых и контрольных значений до конца эксперимента. Эти результаты позволяют

утверждать, что повышение системного уровня ЛПС у анестезированных крыс приводит к ослаблению БРЧ.

Микроэлектростимуляция ИЛК вызывала реакцию системы кровообращения в виде снижения АД и некоторого уменьшения ЧСС (Рис. 4.11, А). Величина депрессорного ответа на 60-й минуте эксперимента составляла в контрольной группе в среднем  $23.8 \pm 2.8$  мм рт. ст., а в экспериментальной группе  $21.0 \pm 1.0$  мм рт. ст. ( $p = 0,98$ ). Введение физиологического раствора не оказывало влияния на величину депрессорного компонента (рис. 4.11, Б). Через 40 минут после введения ЛПС ответ достоверно уменьшался по сравнению с фоновыми и контрольными величинами и этот эффект сохранялся до конца эксперимента.

Результаты, полученные в экспериментах, выполненных по протоколу №2 свидетельствуют о том, что в контрольной серии системные артериальное давление было стабильно, ЧСС сначала росло, а затем также стабилизировалось на уровне, незначительно превышающем исходный. В этой серии на протяжении 3-х часов сохранялась неизменной величина БРЧ, стабильно воспроизводились депрессорные ответы на микроэлектростимуляцию ИЛ. Следовательно, условия эксперимента были адекватны задаче по исследованию эффекта вводимого вещества.

В серии с введением раствора, содержащего ЛПС, величина АДср была стабильна на протяжении первых 60 минут регистрации, ЧСС также демонстрировала незначительный, в пределах нескольких процентов, рост. Стабильной оставалась величина БРЧ и депрессорные ответы на стимуляцию ИЛ. На введение ЛПС система кровообращения реагировала преходящим повышением АДср, которое достигало максимума через 20-40 минут после введения; повышение АДср сменялось его падением ниже уровня фоновых и контрольных величин. Другой системный параметр системы кровообращения, ЧСС, в ответ на введение ЛПС демонстрировал быстрый рост и стабилизацию на уровне, также превышающем фоновые и контрольные значения.

Таким образом система кровообращения животного, анестезированного уретаном, реагировала на экзогенное повышение системного уровня ЛПС двухфазным изменением АДср и повышением ЧСС. Достоверное снижение величины БРЧ, которое наблюдалось уже через 30 минут после введения раствора, содержавшего ЛПС свидетельствовало об угнетающем действии повышенного системного уровня ЛПС на этот рефлекторный механизм. Наконец, было показано ослабление депрессорного эффекта микроэлектростимуляции ИЛК.

#### 4.4. Обсуждение полученных результатов

На очередном этапе экспериментального исследования было прежде всего проверено предположение о том, что экзогенное повышение системного уровня ЛПС позволяет воспроизвести циркуляторные и респираторные эффекты эндотоксинемии у крыс анестезированной уретаном. Затем было изучено влияние повышенного системного уровня ЛПС на состояние рефлекторных механизмов, регулирующих системное АД и объёмно-зависимую обратную связь в системе дыхания. Наконец, было исследовано влияние ЛПС на один из автономных эффектов электрической микростимуляции ИЛК, а именно на депрессорный ответ системы кровообращения.

Приступая к обсуждению полученных результатов, следует, прежде всего отметить, что не было обнаружено статистически достоверных различий между начальными значениями параметров кровообращения, а именно АД<sub>ср</sub> и ЧСС в контрольных и соответствующих экспериментальных группах. Тот же самый результат был получен при определении объёмно-временных параметров дыхания: значения ЧСС и ДО, полученные в контрольных и экспериментальных сериях не имели значимых различий. В большинстве случаев АД<sub>ср</sub> составляло от 90 до 110 мм рт. ст., а ЧСС было в пределах от 240 до 390 уд/мин, что близко к значениям, которые обычно регистрируются в экспериментах на анестезированных крысах (Maggi et al., 1985; Matsuo et al., 2020; Revand, Singh, 2021). Начальные значения ДО в разных сериях колебались, соответственно, от 1,3 мл до 1,8 мл, а частота дыхания от 100 ц/мин до 130 ц/мин. Величина ДО для крыс весом 250-300 г, которые приводятся в литературных источниках находятся в пределах от 1,2 до 2,0 мл, а ЧД при этом составляет от 100 ц/мин до 140 ц/мин (Seifert, Trippenbach, 1998; Хьюнг, 2013; Меркурьев, 2020;). Таким образом начальные значения параметров систем кровообращения и дыхания в целом соответствовали тем значениям, которые обычно регистрируются в сходных экспериментальных условиях у анестезированных крыс. Кроме того, в контрольных экспериментах была показана постоянство этих параметров в течение всего времени регистрации. Эти результаты показали, что условия наших экспериментов обеспечивали стабильное состояние систем дыхания и кровообращения, необходимого для оценки эффектов экзогенного повышения системного уровня ЛПС.

Относительно рефлекторных механизмов, обеспечивающих регуляцию систем кровообращения и дыхания, было установлено, что величина БРЧ в контрольных экспериментах менялась приблизительно от 1,5 уд·мин<sup>-1</sup>/мм рт. ст. до 2,5 уд·мин<sup>-1</sup>/мм рт. ст., что соответствует данным других авторов, полученных в аналогичных и близких экспериментальных условиях (Qadri et al., 1999; Nasser et al., 2016; El-Gowell et al., 2017). При этом в двух контрольных сериях было показано отсутствие достоверных

изменений абсолютной и относительной величины БРЧ в течение 3-х часов регистрации. Сила ИТР, реализующего объёмно-зависимую обратную связь в системе дыхания, оценивалась по длительности первого постокклюзионного инспираторного усилия, выраженного в процентах к длительности последнего инспираторного усилия перед окклюзией. Оба параметра определяли по электромиограмме и постокклюзионный «вдох» обычно был длиннее предокклюзионного на 25-50% в начале всех экспериментов, причём в контрольной серии этот эффект воспроизводился без достоверных изменений до конца опыта. Таким образом, экспериментальные условия обеспечивали стабильное воспроизведение исследуемых рефлекторных реакций, как БР, так и ИТР.

Электрическая микростимуляция ИЛК вызывала ответ системы кровообращения в виде преходящего снижения АД; подобные эффекты регистрировались и ранее в близких экспериментальных условиях (Gubarevich et al., 2024). Амплитуда этих ответов в начале опытов находилась в пределах от 20 мм рт. ст. до 24 мм рт. ст. не имела достоверных отличий в контрольной и экспериментальной сериях, а также стабильно воспроизводилась в контрольных экспериментах в течение 3-х часов. Поскольку ИЛК является одним из узлов ЦАС и экспериментальное воздействие на эту область коры приводит к изменению состояния ЦАС, то по изменению прессорных ответов можно судить о состоянии ЦАС. Соответственно, стабильность этих ответов свидетельствует о стабильном состоянии ЦАС.

Таким образом, условия острых экспериментов на крысах, находящихся под общей уретановой анестезией, обеспечивали стабильную активность систем кровообращения и дыхания, адекватную работу их рефлекторных механизмов, а также устойчивое состояние ЦАС. Следовательно, в этих условиях было возможно выполнить исследование эффектов экзогенного повышения системного уровня ЛПС.

Одной из задач настоящего исследования было обоснование адекватности использованной модели эндотоксинемии. Следует отметить, что системное введение ЛПС является обычным методическим приёмом, который используется для моделирования эффектов эндотоксинемии. С другой стороны, более внимательный анализ литературных источников показал, что в подавляющем большинстве случаев ЛПС вводился бодрствующим животным различных видов (Bone et al., 1992; Palin et al., 2009; Stahl et al., 2013; Schläpfer et al., 2015; Aleksandrov et al., 2020;). Кроме того, следовало иметь в виду, что неоднократно обсуждался и подвергался экспериментальному исследованию вопрос о влиянии анестетиков на эффекты эндотоксинемии (Taniguchi et al., 2003). В предшествующей главе содержатся экспериментальные данные, которые доказывают, что введение ЛПС крысе, анестезированной уретаном, приводит к изменению количества и состава лейкоцитов крови, подобные тем, которые происходят при развитии системной

воспалительной реакции вследствие эндотоксинемии. Поскольку другими важными симптомами СВР являются изменения системного АД и гипервентиляция, то для подтверждения адекватности используемой модели было необходимо исследовать влияние экзогенного повышения системного уровня ЛПС на параметры кровообращения и внешнего дыхания анестезированной крысы.

Эксперименты, описанные в настоящей главе, позволили оценить возможное влияние внутривенного введения раствора, содержащего ЛПС на параметры систем кровообращения и дыхания при использовании разных источников и дозировок этого вещества. Сравнение эффектов ЛПС, выделенных из разных источников, было выполнено потому, что можно было предполагать отличия, в том числе качественные, их эндотоксической активности (MacDonald et al., 1994; Mathiak et al., 2003; Волошина и др., 2009). Было установлено, что введение ЛПС, выделенного из клеток бактерии *S. typhi* в дозировке 0,9 мг/кг вызывает достоверное повышение АД<sub>ср</sub> через 40 минут после введения, а через час АД<sub>ср</sub> возвращалась к исходным значениям. При введении ЛПС, выделенного из *E. coli* в дозировке 7 мг/кг прессорный эффект проявлялся уже через 20 минут, длился около часа, а затем АД<sub>ср</sub> возвращалось к исходным значениям. При повышении дозировки ЛПС до 40 мг/кг удалось обнаружить достоверное повышение АД<sub>ср</sub> уже через 10 минут после введения ЛПС. Кроме того, проявлялся ещё один эффект: повышение АД сменялось его падением до величин ниже исходных и это падение продолжалось до конца опыта. Во всех трёх экспериментальных сериях в ответ на введение ЛПС происходило не только изменение АД, но и повышение ЧСС, которое начиналось приблизительно через 40 минут после введения ЛПС и продолжалось до конца эксперимента.

Гипотензия и тахикардия представляют собой типичные проявления реакции сердечно-сосудистой системы на эндотоксинемии. Такие симптомы возникают при эндогенном увеличении уровня ЛПС в организме, включая случаи сепсиса (Bone et al., 1992; Marik, Taeb, 2017). Эти реакции воспроизводились в экспериментах на подвижных (Passaglia et al., 2021) и анестезированных (Shang et al., 2006; Doursout et al., 2012; Yang et al., 2018; Sturgess et al., 2021) животных. Обращает на себя внимание то обстоятельство, что в процитированных работах в качестве анестетика были использованы пентобарбитал, (Shang et al., 2006), фенобарбитал (Yang et al., 2018) и изофлуран (Doursout et al., 2012; Sturgess et al., 2021). По-видимому, нами впервые был получен эффект снижения АД и повышения ЧСС вследствие введения ЛПС животному, находящему под уретановой анестезией. Правда, этот эффект проявился только при использовании ЛПС в дозировке 40 мг/кг, но ЛПС проявляет свои эффекты в широком диапазоне доз и дозировки в десятки миллиграмм на килограмм веса нередко используются и другими авторами (Shang et al.,

2006, Doursout et al., 2012). При этом продолжительность инфузии и длительность всего эксперимента в указанных работах были больше, чем в наших экспериментах, что и способствовало проявлению депрессорного эффекта ЛПС.

Механизм этого эффекта в общих чертах можно представить следующим образом. Увеличение системного уровня ЛПС способствует повышенному выделению провоспалительных цитокинов, включая ФНО- $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$ , а также оксида азота клетками иммунной системы и сосудистым эндотелием (Andersson, Tracey, 2012). Уровень NO повышается и вызывает расслабление гладких мышц сосудов, что приводит к снижению периферического сосудистого сопротивления и, как следствие, к понижению артериального давления (Hallemesch et al., 2003). В ответ на это снижение артериального давления, ЧСС увеличивается рефлекторно. В наших экспериментах, хотя ЧСС и росла после введения ЛПС, она затем стабилизировалась, несмотря на устойчивое падение среднего артериального давления. Заметим, что этот факт может рассматриваться как косвенное подтверждение снижения БРЧ в условиях эндотоксинемии, вызванной введением ЛПС.

Первоначальный рост АД, который наблюдался в наших экспериментах вследствие введения ЛПС, ранее не описывался и, по-видимому, может являться результатом некоторых центральных эффектов повышающегося уровня провоспалительных цитокинов, которые зачастую маскируются их периферическими эффектами. По имеющимся в литературе данным интерлейкин-6 при поступлении в ЦНС может активировать группу аргинин-вазопрессиновых нейросекреторных клеток супраоптического ядра гипоталамуса (Palin et al., 2009). Синтезируемый при этом аргинин-вазопрессин влияет на гладкую мускулатуру периферических сосудов, приводя к их сокращению и росту периферического сопротивления. В результате были зарегистрирован рост АД<sub>ср</sub> на 10-15 мм рт. ст. в течение 30-40 минут, затем происходила стабилизация АД на повышенном уровне, после чего через 150-180 минут этот показатель снижался до значений близких к исходным. В наших экспериментах изменения АД<sub>ср</sub> носили сходный характер. Однако, введение ЛПС в более высокой дозировке, вызывало прогрессирующее падение АД, что можно, по-видимому, объяснить уже периферическими эффектами эндотоксемии.

Что касается респираторных эффектов ЛПС, то было установлено, что ЛПС из разных источников и в разной дозировке, при введении крысам, анестезированным уретаном, вызывает достоверное и необратимое увеличение МОД, за счёт увеличения ДО, причём достоверных изменений ЧД обнаружено не было. Судя по литературным данным, усиление вентиляции является обычным результатом введения ЛПС анестезированным крысам (Zila et al., 2012; Kolomaznik et al., 2014; Nardocci et al., 2015). Вместе с тем, обращает на себя внимание то обстоятельство, что по данным перечисленных авторов

усиление вентиляции является следствием увеличения ЧД, в то время как ДО оставался неизменным (Nardocci et al., 2015) или уменьшался (Zila et al., 2012; Kolomaznik et al., 2014). При сравнении этих данных с результатами собственных исследований следовало учитывать эффекты использованных анестетиков. В первом указанном случае был использован пентобарбитал, который, подобно другим барбитуратам, подавляет активность дыхательного центра, что приводит к существенному урежению дыхания и, соответственно исходные значения ЧД в этом случае были всего около 70 ц/мин. При использовании уретана в сочетании с  $\alpha$ -хлоралозой (Zila et al., 2012; Kolomaznik et al., 2014) исходная ЧД была значительно выше и составляла 103 ц/мин и 105 ц/мин, приближаясь к тем значениям, которые были зарегистрированы в наших экспериментах при использовании чистого уретана. Вместе с тем, следует иметь в виду более длительное время регистрации, которое составляло 5-6 часов, более низкую дозу уретана и эффекты  $\alpha$ -хлоралозы, которые, несомненно, оказывают влияние на эффекты ЛПС. Во всяком случае, именно МОД является базовым показателем, характеризующим состояние системы дыхания, поскольку именно изменением вентиляции система внешнего дыхания реагирует на метаболический запрос. При этом паттерн дыхания может меняться по-разному, поскольку жесткой связи между изменениями ДО и ЧД не обнаружено. В зависимости от применяемых анестетиков, ДО и ЧД могут меняться по-разному, но и в наших экспериментах, как и по данным других авторов система дыхания реагирует на экзогенное повышение системного уровня ЛПС усилением вентиляции.

Таким образом, наши эксперименты показали, что в условиях уретановой анестезии экзогенное повышение системного уровня ЛПС, выделенного из разных источников, вызывает реакции систем кровообращения и дыхания близкие к тем, которые наблюдаются в состоянии СВР, вызванной эндотоксинемией. Полученные данные окончательно доказали адекватность используемой нами модели эндотоксинемии и первая задача, сформулированная во вводной части настоящей диссертации, была решена.

Следующей задачей было исследование влияния ЛПС на рефлекторные механизмы регуляции систем кровообращения и дыхания. Результаты, полученные в трёх экспериментальных сериях, показали, что в условиях, моделирующих состояние эндотоксинемии, происходит достоверное ослабление БРЧ. Этот эффект оказался дозозависимым ЛПС из *E. coli* в дозировке 40 мг/кг приводит к достоверному ослаблению данного показателя на 40 минут раньше в отличие от тех серий, в которых использовали ЛПС в более низких дозировках. Такой эффект был впервые получен и описан в острых экспериментах на анестезированных животных.

Помимо влияния на БР проведенные эксперименты позволили установить, что при повышении системного уровня ЛПС происходит ослабление ИТР, реализующего отрицательную обратную связь в системе дыхания. При этом, ЛПС из *E. coli* в дозировке 7 мг/кг вызывал достоверное снижение данного показателя на 20 минут ранее ЛПС из *S. typhi* (0,9 мг/кг). Известно, что нейроны ядра солитарного тракта продолговатого мозга участвуют в реализации барорефлекса и рефлекса Геринга-Брейера (Wehrwein, Joynes, 2013), а некоторые из них обладают рецепторами к провоспалительным цитокинам. Однако известно, что главной мишенью для этих цитокинов являются эндотелиальные клетки сосудов и микроглия. Например, под воздействием ИЛ-1 $\beta$ , эти клетки усиленно вырабатывают NO и простагландины (Александров и др., 2015). Простагландин E2, в свою очередь, оказывает двоякое действие на глутаматергическую передачу в нейронных цепях ядра солитарного тракта: он усиливает глутаматергическую передачу между нейронами внутри ядра солитарного тракта и одновременно подавляет высвобождение глутамата из терминалей первичных афферентов, заканчивающихся в ядре солитарного тракта (Marty et al., 2008; Amorim et al., 2019). В любом случае, можно утверждать, что увеличение уровня ЛПС в организме вызывает ослабление БРЧ и силы ИТР, то есть ухудшает работу рефлекторных механизмов нервного контроля кровообращения и дыхания.

Проверка гипотезы о возможном влиянии эндотоксина на способность ИЛК модулировать паттерн активности автономных систем была третьей задачей, которая решалась в экспериментах, описанных в настоящей главе. Полученные данные указывают на то, что повышение уровня ЛПС в системном кровотоке ослабляют депрессорный эффект стимуляции ИЛК. Эта область коры находится на высшем уровне цереброкардиальной оси (Palin et al., 2009) и, как уже указывалось, представляет собой один из ключевых кортикальных узлов в центральной автономной сети (Benarroch, 1993; Benarroch, 2019). Функционально ИЛК может рассматриваться как висцеральная сенсорно-моторная кора, участвующая в формировании моторных команд (Marty et al., 2008; Cechetto, 2014). Существует подтверждение участия ИЛК в регуляции кровообращения предыдущими исследователями, и депрессорные реакции на стимуляцию ИЛК являются типичным эффектом локальной микростимуляции ИЛК у анестезированных животных (Fisk, Wyss, 2000; Owens, Verberne, 2001). При интерпретации результатов таких исследований важно учитывать, что одной из характеристик ЦАС является реципрокность и параллелизм связей (Benarroch, 2019). В частности, существуют как прямые, так и опосредованные проекции, идущие от ИЛК к различным структурам, расположенным на разных уровнях нервной оси, включая бульбарный уровень (Fisk, Wyss, 2000). Установлено, в частности, что эфферентные импульсы, возникающие в ИЛК, могут достигать бульбарного уровня по



прямым моносинаптическим проекциям к ЯСТ (Owens, Verberne, 2001), но установлено, что депрессорные эффекты стимуляции ИЛК реализуются при участии латеральной гипоталамической области и центрального серого вещества (Owens, Verberne, 2001). Однако, учитывая тот факт, что эффекты стимуляции ИЛК реализуются при участии других структур ЦАС, изменение эффектов стимуляции ИЛК свидетельствует об изменении состояния ЦАС в условиях эндотоксинемии.

Как уже отмечалось, важнейшим эффектом повышения системного уровня ЛПС является усиленный синтез провоспалительных цитокинов (Taniguchi et al., 2003). Наличие рецепторов к различным типам провоспалительных цитокинов внутри центральной нервной системы, в частности в автономных структурах продолговатого мозга и других узлах ЦАС, позволяло предполагать, что наблюдавшиеся эффекты ЛПС, в частности изменение активности рефлекторных механизмов систем кровообращения и дыхания были следствием повышения системного уровня провоспалительных цитокинов. Результаты экспериментальной проверки этого предположения приводятся в следующей главе.

## ГЛАВА 5. ЭФФЕКТЫ ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛИ

Эксперименты с введением ЛПС животным, анестезированным уретаном, показали, что экзогенное повышение системного уровня ЛПС позволяет воспроизвести важные симптомы эндотоксинемии, а именно лейкопению, тахикардию и усиление вентиляции. Эти результаты доказали возможность исследования эффектов эндотоксинемии в острых экспериментах. В результате, было впервые установлено, что повышение системного уровня эндотоксина в условиях острого эксперимента приводит к ослаблению рефлекторных механизмов систем кровообращения и дыхания. Ещё одним эффектом ЛПС, впервые обнаруженным в экспериментах на анестезированных животных, стало ослабление депрессорных ответов на микроэлектростимуляцию ИЛК. Таким образом было доказано, что одним из последствий эндотоксинемии является ослабление нервных, в том числе рефлекторных, механизмов, осуществляющих контроль активности систем кровообращения и дыхания.

Вместе с тем, согласно литературным данным, повышение системного уровня ЛПС стимулирует выработку провоспалительных цитокинов клетками иммунной системы (Rossol et al., 2011). В свою очередь, повышение системного уровня ключевого провоспалительного цитокина кахектина - фактора некроза опухоли - вызывает нарушения функции дыхания (Hofstetter et al., 2007; Aleksandrova et al., 2021), а также разнонаправленные изменения АД (Žera et al., 2016). Было установлено, что указанные эффекты ФНО могут быть следствием усиления активности циклооксигеназы-2 (ЦОГ-2) и повышения уровня простагландинов (Hofstetter et al., 2007; Žera et al., 2016; Aleksandrova et al., 2021). С другой стороны, в литературе имеются данные о том, что цитокины могут опосредовать действие ЛПС на процессы внутри центральной нервной системой (Felger, 2018; Amorim et al., 2019), где они участвуют в межклеточной коммуникации в качестве нейромодуляторов (Stone et al., 2022).

Эти данные позволили предположить, что одним из механизмов, реализующих влияние повышенного системного уровня ЛПС на активность систем кровообращения и дыхания, а также на рефлекторные механизмы, контролирующие эти системы, является повышение системного уровня провоспалительных цитокинов. Поэтому очередной задачей нашего исследования стало изучение возможного влияния экзогенного повышения системного уровня провоспалительного цитокина ФНО на системные параметры кровообращения и дыхания, а также на БРЧ и силу ИТР и в условиях эксперимента на анестезированных крысах. Кроме того, было экспериментально проверено предположение о том, что влияние ФНО на центральные механизмы автономного контроля реализуется, в свою очередь, путём усиления синтеза циклооксигеназы и, как следствие, повышение

уровня простагландинов. Для этого было исследовано влияние диклофенака (ДК) на эффекты внутривенного введения ФНО. Известно, что ДК является блокатором ЦОГ обоих типов, но в большей степени ЦОГ 2, осуществляющей синтез ПГ.

### 5.1. Методические замечания

Для решения очередных задач экспериментального исследования были разработаны два экспериментальных протокола и проведены 6 серий экспериментов.

*Экспериментальный протокол №1.* Первые две серии экспериментов были проведены для того, чтобы оценить возможное действие ФНО- $\alpha$  на системные показатели кровообращения и БРЧ, а также влияние ДК на эти эффекты. В соответствии с протоколом №1 в течение 3-х часов непрерывно регистрировали АД и периодически тестировали БРЧ (рис. 5.1). Через 40 минут после начала регистрации животным группы №1 ( $n=7$ ) вводили физиологический раствор (ФР), а животным группы №2 ( $n=7$ ) раствор, содержащий ДК (0.5 мкг); через 70 минут животным обеих групп вводили раствор, содержащий ФНО- $\alpha$  (10 мкг, TNF- $\alpha$  human, Sigma). Все растворы вводились внутривенно, их объём равнялся 1 мл. В этих экспериментах были использованы самцы крыс линии Wistar ( $n=14$ , вес 200-250 г., средний вес  $223\pm 6$  г). Средняя доза ФНО- $\alpha$  в контрольной серии составляла  $43\pm 3$  мкг/кг, а в серии с ДК  $45\pm 2$  мкг/кг (различия в дозировках оказались статистически недостоверными). Средняя доза ДК равнялась  $2,2\pm 0,2$  мкг/кг.

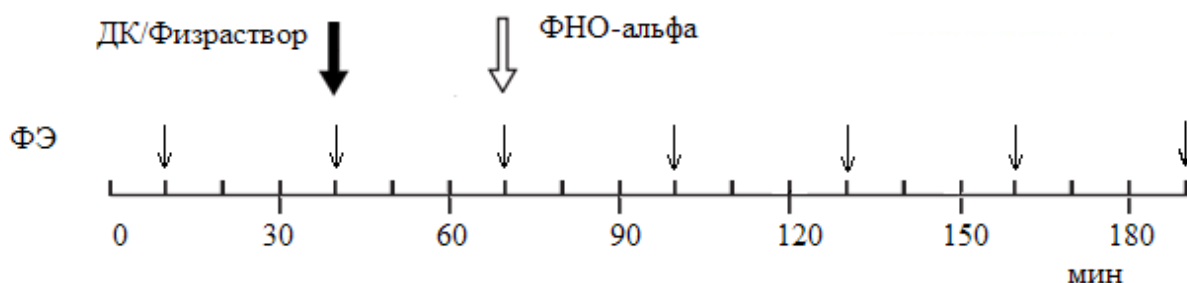


Рис. 5.1. Экспериментальный протокол №1. Оценка влияния экзогенного повышения уровня ФНО- $\alpha$  на состояние системы кровообращения.

Стрелки – моменты инфузии ФЭ (тестирование БР).

*Экспериментальный протокол №2.* В соответствии с этим протоколом в течение 3-х часов непрерывно регистрировали ПТГ и периодически тестировали ИТР (рис.5.2). В двух сериях экспериментов, выполненных в соответствии с протоколом №2, было исследовано возможное влияние ФНО- $\alpha$  (Sigma-Aldrich, 10 мкг) на системные параметры внешнего дыхания и силу ИТР, а также воздействие ДК на эффекты ФНО- $\alpha$ . Кроме того, в 2-х контрольных сериях было изучено возможное влияние двукратного вливания физраствора на параметры дыхания и ИТР, а также влияние ДК на эти параметры. Животным первой контрольной серии ( $n=7$ ) на 40-й и 70-й минутах регистрации вводили 1 мл физраствора.

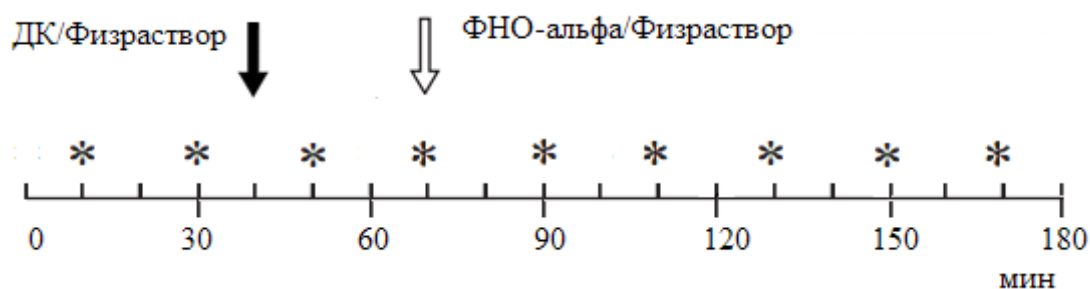


Рис. 5.2. Экспериментальный протокол №2. Оценка влияния экзогенного повышения уровня ФНО- $\alpha$  на состояние системы внешнего дыхания.

\* - моменты окклюзий верхних дыхательных путей (тестирование ИТР).

Во второй контрольной серии ( $n=6$ ) на 40-й минуте вводили ДК, на 70-й физраствор. В третьей, экспериментальной, серии ( $n=8$ ) на 40-й минуте осуществлялось введение физраствора, а на 70-й минуте вводился ФНО- $\alpha$ . Наконец, в 4-й серии ( $n=6$ ) на 40-й минуте вводили ДК, а на 70-й ФНО- $\alpha$ . Всего в 4-х сериях было использовано 27 самцов крыс Wistar весом 200-270 г, средний вес  $229 \pm 4$  г. Средняя доза ФНО- $\alpha$  равнялась  $44 \pm 1$  мкг/кг, ДК  $2,3 \pm 0,1$  мкг/кг.

## 5.2. Влияние ФНО на параметры кровообращения и барорефлекс

Настоящий раздел содержит результаты экспериментов по исследованию состояния системы кровообращения в условиях экзогенного повышения системного уровня ФНО- $\alpha$  и влияния ДК на эффекты ФНО- $\alpha$ .

### *Изменение системных параметров кровообращения.*

Величина АДср анестезированной крысы на первой минуте регистрации составляла в среднем  $72 \pm 7$  мм рт. ст. в серии экспериментов с введением физиологического раствора и  $69 \pm 7$  мм рт. ст. в экспериментах с введением диклофенака; различия между этими величинами оказались статистически недостоверными. Средние значения ЧСС составляли, соответственно,  $330 \pm 27$  уд/мин и  $334 \pm 20$  уд/мин, то есть также практически совпадали. Статистический анализ экспериментальных данных показал, что до введения ФНО ни АДср, ни ЧСС не претерпевали достоверных изменений ни в одной из двух экспериментальных серий, то есть ни введение физиологического раствора, ни введение диклофенака не приводило к изменениям АДср или ЧСС, их фоновые показатели были стабильны (рис. 5.3). В экспериментах с введением физраствора обычной и стабильно воспроизводящейся реакцией системы кровообращения на введение ФНО было повышение АДср и ЧСС (рис.5.3). Оба параметра достигали максимальных значений через 40 минут после введения, то есть на 100-й минуте опыта. При этом, АДср оставалась на достигнутом уровне в течение 60 минут, а затем начинала снижаться (рис.5.3, А). К концу эксперимента, на 180-й минуте, величина этого параметра не обнаруживала достоверных отличий от

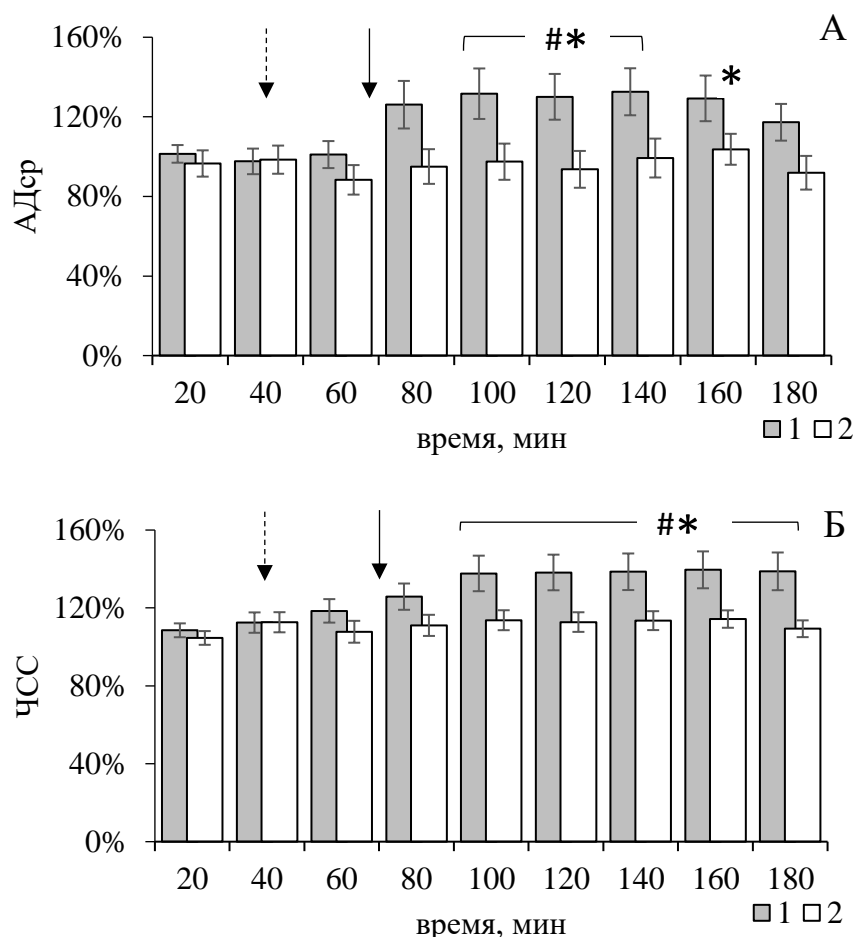


Рис. 5.3. Динамика системных показателей кровообращения в экспериментах с введением ФНО- $\alpha$ .

По осям ординат - величины АДср (А) и ЧСС (Б), выраженные в процентах к их значениям на первой минуте регистрации; по осям абсцисс – время от начала регистрации в минутах.

Стрелка пунктирная – момент введения диклофенака или физраствора; стрелка сплошная – момент введения ФНО.

1 – результаты экспериментов с введением физраствора и ФНО- $\alpha$ ; 2 – результаты экспериментов с введением диклофенака и ФНО- $\alpha$ .

\* - достоверные отличия от значений АДср и ЧСС до введения ФНО- $\alpha$ . # - достоверные отличия от значений, установленных в экспериментах с введением ДК. Отличия достоверны при (при  $p < 0,05$ )

фоновых значений, так же, как и от значений, полученных в серии с введением ДК. Что касается ЧСС, то этот параметр после достижения максимальных значений оставался на постоянном уровне до конца эксперимента (рис.5.3, Б). Эксперименты, выполненные в серии с предварительным введением ДК, показали, что диклофенак полностью устраняет описанные выше эффекты ФНО. В этой серии экспериментов величина АДср и ЧСС после введения ФНО- $\alpha$  не изменялась и была достоверно меньше, чем соответствующие значения, полученные в серии с введением ФНО- $\alpha$  на фоне действия ДК. Таким образом, ФНО вызывал повышение АДср и ЧСС анестезированных крыс, а ДК устранял этот эффект.

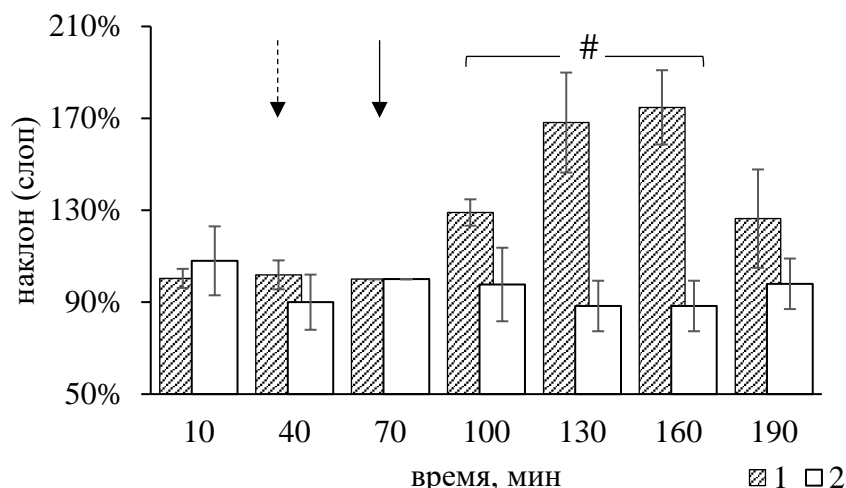


Рис. 5.4 Изменение БРЧ под действием ФНО- $\alpha$  и влияние ДК на этот эффект.

По оси ординат - величина «слопа», выраженная к его значению на 70-й минуте, то есть непосредственно перед введением ФНО- $\alpha$ . Прочие обозначения – как на рис. 5.3

ФНО- $\alpha$  вызвал рост БРЧ уже через 30-ть минут после введения, однако, предварительное введение раствора, содержавшего ДК, устраняло этот эффект (рис.5.3).

### 5.3 Влияние ФНО на параметры дыхания и инспираторно-тормозящий рефлекс

Основное содержание настоящего раздела составляют результаты экспериментов по исследованию состояния системы внешнего дыхания при экзогенном повышении системного уровня ФНО- $\alpha$  и влияния ДК на эффекты ФНО- $\alpha$ . Кроме того, приводятся результаты контрольных экспериментов.

#### *Результаты контрольных экспериментов*

Результаты контрольных экспериментов, выполненных в соответствии экспериментальным протоколом №2 приведены в табл.5.1. Как следует из данных, представленных в табл. 5.1, физраствор, который был введен на 40-й и 70-й минуте эксперимента, не вызывал достоверных изменений параметров внешнего дыхания и силы ИТР. Инъекция ДК на 40-й минуте эксперимента в сочетании с физиологическим раствором на 70-й минуте, также не вызывала значимых изменений ни по одному из параметров. Из этого следует, прежде всего, что протокол этой и других экспериментальных серий был пригоден для изучения потенциальных респираторных эффектов ФНО и влияния ДК на эти эффекты. Кроме того, эти серии экспериментов показали, что сам по себе ДК не влияет на параметры дыхания и ИТР.

#### *Изменение системных параметров дыхания и ИТР под влиянием ФНО.*

Третья и четвёртая серии экспериментов, описываемых в настоящей главе, были проведены для выявления эффектов повышения уровня ФНО- $\alpha$  на систему внешнего

Таблица 5.1.

Результаты экспериментов с внутривенным введением физраствора и диклофенака

Группы животных	Параметр	10 мин	40 мин	70 мин	100 мин	130 мин	160 мин
Физраствор + физраствор (n=7)	ЧД (ц мин <sup>-1</sup> )	101±5	104±6	101±5	103±6	104±6	104±6
	ДО (мл)	1.84±0.25	1.81±0.26	1.84±0.23	1.95±0.24	1.91±0.28	1.82±0.23
	МОД (мл мин <sup>-1</sup> )	183±20	183±19	180±18	195±17	193±21	187±19
	Тюкк (%)	133±7	139±5	140±8	138±6	140±7	143±10
ДК + физраствор (n=8)	ЧД (ц мин <sup>-1</sup> )	102±6	101±3	104±10	101±4	100±5	100±5
	ДО (мл)	1.74±0.18	1.85±0.11	1.76±0.18	1.86±0.14	1.88±0.16	1.80±0.18
	МОД (мл мин <sup>-1</sup> )	171±9	186±9	187±15	188±16	188±17	178±17
	Тюкк (%)	142±5	134±3	129±8	138±6	132±4	137±3

ЧД – частота дыхания, ДО – дыхательный объём, МОД – минутный объём дыхания, Тюкк – показатель, характеризующий силу ИТР, который представляет собой длительность первого «вдоха» после окклюзии, выраженная в процентах к длительности последнего вдоха перед окклюзией. Внутривенные введения растворов производились на 40-й и 70-й минутах эксперимента.

дыхания и оценки возможного влияния ДК на эти эффекты. Было установлено, что и в этих экспериментах введение физраствора или ДК не изменяло параметры дыхания, поскольку величина ДО и МОД на 30-й, 50-й и 70-й минутах не имела достоверных отличий. (рис.5.5). После инъекции ФНО постепенно росла ЧД, но этот рост был статистически недостоверным. В то же время введение ФНО-α приводило к постепенному увеличению ДО, причем значение этого показателя продолжало расти до конца эксперимента (рис.5.5, А). До введения ФНО-α средний показатель ДО составил 1,89±0,21 мл, к концу эксперимента его значение достигало 2,23±0,18, что достоверно отличается до контрольных и фоновых величин. Закономерно, что рост ДО приводил к увеличению МОД, причём изменения этого показателя становились статистически достоверными через час после введения ФНО-α и к концу опыта повышались на 32% в сравнении с началом эксперимента (рис. 5.5, Б).

Результаты экспериментов показали, что в обеих сериях (с введением физраствора и с введением ДК) показатель силы ИТР оставался стабильным вплоть до момента введения раствора, содержащего ФНО (рис. 5.5, В). В экспериментах с предварительным введением физраствора эффект ФНО в виде ослабления ИТР проявлялся приблизительно через час

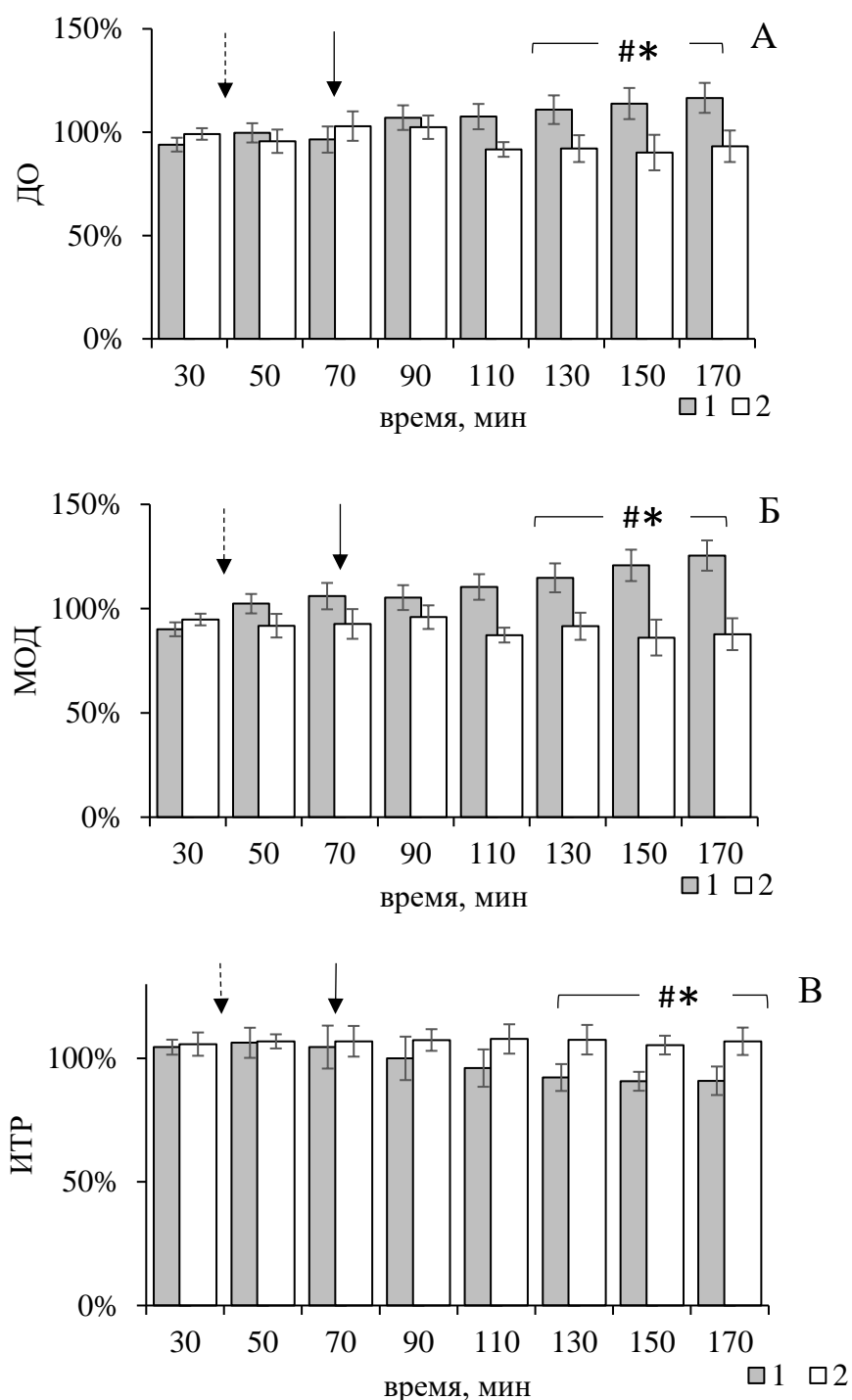


Рис. 5.5 Влияние ФНО- $\alpha$  на систему дыхания и эффект ДК.

По осям ординат – величина ДО (А), МОД (Б) и сила ИТР (В), выраженные в процентах к их значениям на 40-й минуте эксперимента, перед введением первого раствора; по осям абсцисс – время от начала эксперимента.

Стрелка пунктирная – момент введения ДК или физраствора; стрелка сплошная – момент введения ФНО.

1 –эксперименты с введением физраствора и ФНО- $\alpha$ , 2 – эксперименты с введением ДК и ФНО- $\alpha$

\* - достоверные отличия от значений ДО и МОД до введения ФНО. # - достоверные отличия от значений, установленных в экспериментах с введением ДК. Отличия достоверны при  $p < 0,05$



после введения ФНО и сохранялся до конца регистрации. Предварительное введение раствора, содержавшего ДК, устраняло этот эффект ФНО.

#### **5.4. Обсуждение полученных результатов**

Основной задачей, которая должна была быть решена в результате проведения экспериментов, описанных в настоящей главе, являлась проверка гипотезы, согласно которой повышение системного уровня провоспалительного цитокина ФНО- $\alpha$  является фактором, влияющим на состояние систем дыхания и кровообращения, а также на рефлекторные механизмы их регуляции. Кроме того, следовало проверить предположение о том, что эти эффекты ФНО- $\alpha$  реализуются вследствие усиления синтеза простагландинов. В результате проведенных экспериментов было показано, что введение ФНО- $\alpha$  оказывает влияние на показатели активности сердечно-сосудистой и дыхательной систем и приводит к достоверному повышению АД<sub>ср</sub>, ЧСС, ДО и МОД. Помимо этого, впервые было установлено, что экзогенное повышение системного уровня ФНО- $\alpha$  у крыс, анестезированных уретаном, приводит к усилению БРЧ и ослаблению ИТР.

Известно, что в условиях эндотоксинемии ЛПС активизирует рецепторы тучных клеток и макрофагов, вызывая синтез и высвобождение большого количества провоспалительных цитокинов, что приводит к скачкам АД, тахикардии, гипотермии с последующим повышением температуры тела и вызывает риск летального исхода (Amorim et al., 2019). При нормальных условиях системный уровень провоспалительных цитокинов чрезвычайно низок, однако при эндотоксинемии он возрастает в десятки и сотни раз, так что гиперцитокинемия является обычным следствием эндотоксинемии на определенном этапе развития реакции организма на повышение уровня эндотоксина.

Установлено, что системное введение ЛПС также значительно повышает уровень провоспалительных цитокинов, в том числе ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-10 (McDonald et al., 2016). В частности, внутривенное введение ЛПС вызывает повышение содержания ФНО от 750 до 5000 нг/мл (Foster, McCormick, 1993). С другой стороны, очевидно, что состояние гиперцитокинемии также можно моделировать путём системного введения препаратов исследуемых цитокинов. При использовании этого методического приёма возникает вопрос об адекватности применяемых дозировок. Вес крыс, использованных в обсуждаемой серии экспериментов, составлял 200-250 грамм, поэтому, опираясь на результаты специального исследования (Belcher, Harris, 1957), следует считать, что объём плазмы крови этих крыс составлял 3,02-3,03 мл/100 г веса, то есть от 6,0 до 7,5 мл. Поскольку каждой крысе внутривенно вводилось 10 мкг (или 10 000 нг) ФНО- $\alpha$ , то можно считать, что начальная концентрация ФНО- $\alpha$  в плазме крови, то есть непосредственно после его введения, составляла приблизительно от 1300 до 1700 нг/мл. Эти величины вполне сопоставимы с

приведенными выше данными о повышении уровня ФНО после введения ЛПС. Далее, согласно литературным данным (Ferraiolo et al., 1989), для человеческого рекомбинантного ФНО- $\alpha$ , введенного крысам-самцам в дозировке 10-46 мкг/кг, что полностью соответствует условиям наших экспериментов, период полураспределения ФНО- $\alpha$  равнялся 2,1 минуты, а период полувыведения – от 14,4 до 31,8 минут. Напомним, что период полураспределения ( $T_{1/2\alpha}$ ) — это время в течение фазы распределения, за которое концентрация вещества в плазме крови уменьшается на 50%. В свою очередь, период полувыведения ( $T_{1/2\beta}$ ) представляет собой количество времени, необходимое для снижения концентрации в плазме крови на 50% в течение фазы выведения. По нашему мнению, результаты расчётов позволяют сделать вывод о том, что дозировки ФНО- $\alpha$ , использованные в наших экспериментах, позволяли поднять его системный уровень близко к той величине, которая достигается в состоянии гиперцитокинемии.

Наши результаты, касающиеся изменения системных параметров кровообращения и дыхания анестезированной крысы при экзогенном повышении системного уровня ФНО в целом хорошо соотносятся с результатами исследований, выполненных на других экспериментальных моделях. По имеющимся литературным данным, введение ФНО- $\alpha$  вызывало разнонаправленные изменения АД, но, главным образом, в сторону его повышения. По мнению одних авторов, прессорный эффект ФНО- $\alpha$  объясняется его действием на активность ренин-ангиотензиновой системы (Sriramula et al., 2008). Другие авторы рассматривают механизм, с помощью которого ФНО- $\alpha$  вызывает понижение АД, и доказывают, что этот эффект является следствием усиленной продукции известного газообразного медиатора, оксида азота, который является мощным фактором релаксации эндотелия сосудов (Kilbourn et al., 1990). Отмечается дозозависимый эффект ФНО: его высокие дозы снижают АД, тогда как умеренное повышение ФНО- $\alpha$  связывается с большим удержанием NaCl в организме и повышением АД (Ramseyer, Garvin, 2013). Разнообразие механизмов, реализующих влияние ФНО на АД, вполне соответствует представлениям о плейотропном действии провоспалительных цитокинов, однако следует заметить, что простаноидзависимый механизм действия ФНО на АД ранее описан не был. Кроме того, предыдущими исследованиями было показано, что ФНО, так же как и другой известный провоспалительный цитокин, ИЛ-1 $\beta$ , влияет на дыхательную систему, вызывая усиление вентиляции легких за счет увеличения ДО (Александрова и др., 2015; Aleksandrova et al., 2015). Эффекты ФНО- $\alpha$ , подобные тем, которые были описаны в настоящем разделе, были отмечены и в других работах (Donina et al., 2021). По мнению авторов указанных исследований, повышение системного уровня провоспалительных цитокинов вызывают острую дыхательную недостаточность из-за подавления компенсаторного увеличения

вентиляции легких на гипоксические стимулы, что может быть опосредовано нарушением центральных систем регуляции дыхания.

Известно, что формирование паттерна дыхания и регуляция кровообращения – это сложные процессы, который определяются внутрицентральными взаимодействиями между нейронами дыхательного и сосудодвигательного центра, а также нейронами структур, входящих в состав ЦАС. Рефлекторную регуляцию этих процессов обеспечивают ИТР, реализующий объёмно-зависимую обратную связь в системе дыхания и БР, а нейроны, входящие в состав рефлекторных дуг этих рефлексов, расположены в ядре солитарного тракта и вентролатеральной части продолговатого мозга. В то же время известно, что в области ЯСТ на так называемых *pump*-клетках располагаются синапсы афферентов медленно адаптирующихся механорецепторов воздухоносных путей. Эти *pump*-клетки являются нейронами второго порядка в рефлекторной ИТР (Александрова и др., 2015). Возможно, прямое или опосредованное воздействие провоспалительного цитокина ФНО на ЯСТ - место замыкания рефлекторной дуги ИТР - и обуславливает ослабление данного рефлекса у крыс во время воспалительной реакции. Вероятнее всего, ФНО- $\alpha$  действует через механизм, опосредованный простагландинами.

Специальными исследованиями было показано, что рецепторы провоспалительных цитокинов, в том числе ФНО- $\alpha$  обнаруживаются в ядре солитарного тракта и вентролатеральной части продолговатого мозга (Probert, 2015; Hsieh et al., 2020). Эти данные подтверждают предположение о том, что описанные в настоящей главе эффекты ФНО на ИТР имеют центральную природу. Возникает вопрос о том, как реализуются эти эффекты. Высказывались предположения о существовании механизмов, обеспечивающих транспорт ФНО и других цитокинов через гематоэнцефалический барьер, а также о том, что при повышении системного уровня провоспалительных цитокинов они могут проходить через неплотные участки гематоэнцефалического барьера, которые имеются в циркумвентрикулярных органах (Churchill et al., 2006). С другой стороны установлено, что через 2 часа после внутрибрюшинного введения провоспалительных цитокинов ИЛ-1 $\beta$  и ФНО- $\alpha$  наблюдается повышение уровня мРНК этих цитокинов в ядре одиночного тракта, гипоталамусе и некоторых других структурах ЦАС (Churchill et al., 2006; Taishi et al., 2008). Подобные данные позволяют предполагать, что центральные эффекты периферических цитокинов, по крайней мере отчасти, объясняются их усиленной продукцией в ЦНС. Некоторые авторы полагают, что биологическая активность системного ИЛ-1 $\beta$  или ФНО- $\alpha$ , приводящая к увеличению уровня мРНК ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$  и др. в головном мозге опосредуется афферентами блуждающего нерва, поскольку может блокироваться ваготомией (Hansen, Krueger, 1997; Kubota et al., 2001). Предполагалось также, что

повышение системного уровня провоспалительных цитокинов приводит к усилению синтеза различными клетками организма мелких молекул-посредников, способных проходить через ГЭБ, например, газообразного медиатора оксида азота (Churchill et al., 2006).

Возвращаясь к приведенным выше расчётам, следует отметить, что по нашим данным через 10 минут после введения ФНО, то есть тогда, когда более 50% введенного вещества уже попало в ткани, ещё не наблюдается достоверного изменения системных параметров кровообращения и дыхания. Достоверное повышение АДср и ЧСС, а также ДО наблюдалось только через 30 минут после введения ФНО, то есть к моменту, когда содержание ФНО в плазме должно было резко снизиться. По-видимому, существенная задержка между моментом введения ФНО и проявлением эффектов сама по себе могла свидетельствовать о том, что повышение системного уровня ФНО не являлось непосредственной причиной наблюдавшихся изменений системных параметров кровообращения и дыхания, а скорее было сигналом, который запускал какой-то более медленный механизм. Этот механизм действовал и более длительное время, поскольку достоверное повышение учитываемых параметров сохранялось до конца эксперимента.

С другой стороны, известно, что ФНО вызывает экспрессию ряда генов и синтез белков, участвующих в развитии воспаления, включая простагландин-эндопероксид синтазу (КФ 1.14.99.1, циклооксигеназа, ЦОГ). Как известно, индуцибельная циклооксигеназа-2, выделяющаяся при воспалении, превращает свободную арахидоновую кислоту в промежуточный простагландин H<sub>2</sub>, который, в свою очередь, превращается в простагландин E<sub>2</sub>. Кроме того, было установлено, что ФНО- $\alpha$  стимулирует продукцию простагландинов различными клетками, в том числе макрофагами и астроцитами (Bachwich et al., 1986; Nakajima et al., 2022), а ПГ E<sub>2</sub> может выделяться эндотелием сосудов мозга (Spatz et al., 1993). Эти данные позволили сделать предположение о том, что в наших экспериментальных условиях именно ПГ могут быть молекулами-посредниками, реализующими влияние повышенного уровня ФНО- $\alpha$  на состояние систем дыхания и кровообращения, а также на центральные механизмы их регуляции.

Экспериментальные данные, изложенные в настоящей главе, показали, что изменения системных показателей кровообращения и дыхания вызванные ФНО- $\alpha$ , не проявляются в том случае, если животному предварительно вводили препарат диклофенак, который является блокатором индуцибельной ЦОГ-2. Кроме того, было впервые установлено, что предварительное введение крысам ДК устраняло потенцирующее действие ФНО- $\alpha$  на БР и ослабление ИТР рефлекса под действием ФНО- $\alpha$ . Таким образом

предположение о том, что ПГ могут быть молекулами-посредниками, реализующими обнаруженные эффекты ФНО- $\alpha$  получило прямое экспериментальное подтверждение.

Следует отметить, что простаноидзависимый эффект провоспалительного цитокина ФНО- $\alpha$  обнаружен впервые в настоящем исследовании, но он не является уникальным, поскольку подобный эффект был установлен ранее для другого провоспалительного цитокина, а именно для ИЛ-1 $\beta$ . В частности, известно, что ИЛ-1 $\beta$  может подавлять дыхание и гипоксическую защиту через механизм, опосредованный ПГ (Olsson et al., 2003). Установлено, что посредством активации циклооксигеназы-2 ИЛ-1 $\beta$  вызывает увеличение выработки и высвобождения простагландина E2, который может влиять на дыхание через рецепторы EP3 в ядре солитарного тракта. (Hocker et al., 2017). В одном из исследований на новорожденных мышях сообщалось, что ИЛ-1 $\beta$  отрицательно влияет на дыхание и его центральный контроль за счет связывания ПГ E2 с рецепторами ствола мозга, что приводит к увеличению частоты апноэ и смертности, вызванной гипоксией (Olsson et al., 2003; Hofstetter et al., 2007).

По-видимому, повышение системного уровня ФНО- $\alpha$  вызывает усиление синтеза индуцибельной ЦОГ-2 на периферии и в головном мозге, что в свою очередь, приводит к усилению продукции ПГЕ2. Рецепторы к ПГЕ2, так называемые рецепторы EP3, локализованы в различных областях головного мозга. Эти рецепторы были найдены в структурах продолговатого мозга, которые участвуют в регуляции кровообращения и дыхания, в том числе в ЯСТ (Marty et al., 2008; Rezaq et al., 2016). Поскольку первичные афференты блуждающего нерва, оканчивающиеся в ЯСТ, передают в ЦНС разнообразную сенсорную информацию от рецепторов, расположенных в органах систем кровообращения и дыхания, то воздействуя на синаптическую передачу в ЯСТ, простагландин E2 может оказывать влияние на центральные механизмы регуляции функций систем дыхания и кровообращения, (Laaris, Weinreich, 2007). Кроме того, имеются данные о влиянии простагландинов не только на ЯСТ, но и на некоторые другие структуры ЦНС, вовлеченные в контроль дыхания и кровообращения, например, в латеральных парабрахимальных ядрах и вентролатеральной области продолговатого мозга (Ericsson et al., 1994). Таким образом, полученные результаты вполне согласуются с имеющимися литературными данными о возможном влиянии ПГ на нервные механизмы, осуществляющие контроль автономных систем.

Итак, экзогенное повышение системного уровня ФНО- $\alpha$  приводит к изменению параметров активности кардиореспираторной системы, усиливает барорефлекс и ослабляет инспираторно-тормозящий рефлекс; предварительное введение диклофенака устраняет эти эффекты. Эти результаты экспериментального исследования подтвердили гипотезу о

возможном влиянии провоспалительного цитокина ФНО- $\alpha$ , при повышении его системного уровня, на состояние систем кровообращения и дыхания, и, главное, на состояние рефлекторных механизмов, обеспечивающих их контроль: БРЧ усиливается, а сила ИТР ослабевает. Они доказывают, что условиях гиперцитокинемии, вызванной эндотоксинемией, происходит изменение активности рефлекторных механизмов, обеспечивающих поддержание постоянного АД и объёмно-зависимую связь в системе дыхания, что в свою очередь, может быть одной из причин нарушения функций кровообращения и дыхания. Кроме того, установлено, что по крайней мере одним из путей, реализующих указанные эффекты ФНО- $\alpha$ , является усиленный синтез ЦОГ-2 и, как следствие, повышение системного и/или церебрального уровня ПГ.

## ГЛАВА 6. ЭФФЕКТЫ ДЕКСАМЕТАЗОНА НА ПАРАМЕТРЫ СИСТЕМЫ КРОВООБРАЩЕНИЯ И МЕХАНИЗМЫ ЕЁ КОНТРОЛЯ

В предыдущих главах были рассмотрены эффекты экзогенного повышения системного уровня ЛПС и одного из ключевых провоспалительных цитокинов -ФНО- $\alpha$  на состояние систем кровообращения и дыхания, а также на некоторые механизмы, обеспечивающие центральный нервный контроль этих систем. Было установлено, что введение препаратов ЛПС и ФНО- $\alpha$  анестезированным крысам приводит к изменению системных параметров кровообращения и дыхания, влияет на БРЧ, ослабляет ИТР. Кроме того, было показано, что в условиях, моделирующих состояние эндотоксинемии происходит ослабление эффектов стимуляции ИЛК, что, по нашему мнению, указывает на изменение состояния ЦАС.

Вместе с тем известно, что ЛПС представляет собой системный (иммунологический) стрессор и одним из последствий эндотоксинемии является активация гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой (НРА) оси (Hadid et al., 1999, Beishuizen, Thijs, 2003, Marketon, Sternberg, 2010). Реакция НРА на эндотоксинемии обусловлена, главным образом, повышением системного уровня цитокинов, в том числе ФНО- $\alpha$ , которые, в свою очередь, оказывают своё действие на разных уровнях НРА (Beishuizen, Thijs, 2003; Marketon, Sternberg, 2010), вызывая, в результате, повышение системного уровня глюкокортикоидов. Таким образом, повышение системного уровня ГК является ещё одним следствием эндотоксинемии. С другой стороны, рецепторы ГК (ГКР) экспрессируются в тех структурах продолговатого мозга, где расположены нейроны, образующие дугу БР (Cintra et al., 1994; Wehrwein, Joynes 2013). Кроме того, установлено, что нейроны структур, образующих ЦАС и способных модулировать БР, также экспрессируют ГКР и реагируют на повышенный уровень этих гормонов; это относится, в частности к префронтальной коре (Butts et al., 2011; McKlveen et al. 2013; Kanatsou et al. 2019).

Указанные литературные данные позволили сделать предположение о том, что повышение уровня ГК в условиях эндотоксинемии на этапе активации НРА может оказывать влияние на нервные механизмы, контролирующие активность автономных систем и, таким образом, повышение системного уровня ГК может быть одним из механизмов, обуславливающих нарушение автономных функций в условиях эндотоксинемии. Для проверки этого предположения было исследовано влияние системного введения синтетического ГК дексаметазона на состояние БР и ЦАС, а также на способность ЦАС модулировать БР. Состояние БР оценивали по изменениям БРЧ,

состояние ЦАС – по амплитуде депрессорных ответов на электрическую микроstimуляцию латеральной префронтальной (инсулярной) коры. Способность ЦАС модулировать БР оценивали, тестируя БРЧ на фоне электрической микроstimуляции ИНС и сравнивая её с БРЧ вне стимуляции.

### 6.1. Методические замечания

Экспериментальный протокол этой части исследования предусматривал прямую регистрацию системного АД и его изменений в ответ на предъявление стимулов. К регистрации приступали через полчаса после окончания препаровки, общая длительность эксперимента составляла 210 минут, тестирование начинали на 30-й минуте эксперимента, внутривенное вливание растворов производили на 80-й минуте (рис. 6.1). В экспериментах регистрировали реакции системы кровообращения в виде изменения АДср и ЧСС в ответ

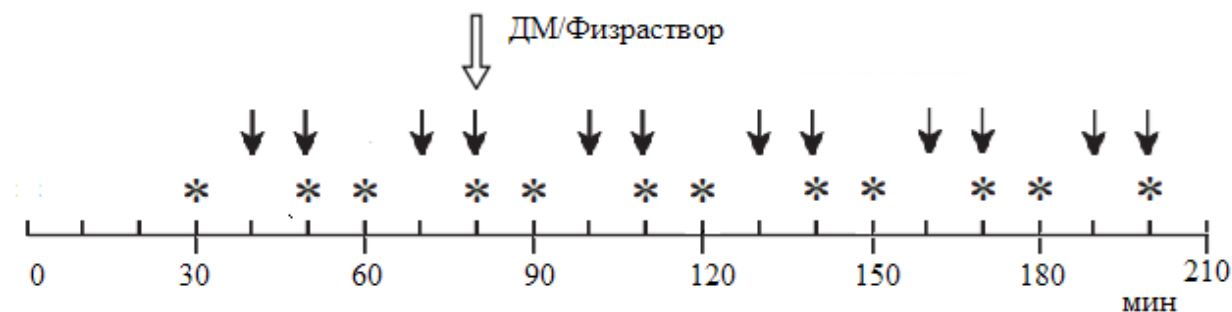


Рис. 6.1. Экспериментальный протокол

Светлая стрелка на схеме – момент введения ДМ или физиологического раствора, темные стрелки – моменты введения фенилэфрина, звездочки – микроэлектростимуляция ИНС. По оси – время от начала эксперимента.

на три вида последовательно предъявляемых стимулов, а именно: электрическая микроstimуляция ИНС в течение 20 с; внутривенное введение ФЭ в течение 3 секунд, введение ФЭ на фоне стимуляции инсулярной коры. В последнем тесте введение ФЭ начинали через 5-6 секунд после начала стимуляции ИНС. Интервалы между стимулами составляли 10 минут; последовательность из трех стимулов повторялась 6 раз в течение каждого эксперимента. После второго предъявления набора стимулов животным опытной группы (n=11) внутрибрюшинно вводили 1 мл раствора, содержащего ДМ (Krka, Slovenia) в дозе 1,5 мг/кг; животным контрольной группы (n=10) вводили 1 мл физиологического раствора. Затем описанную выше последовательность стимулов предъявляли ещё 4 раза.

Для электрической микроstimуляции ИНС металлический микроэлектрод сопротивлением 100 кОм погружали, в точку с координатами +1,5 мм относительно *bregma*, 5,3-5,5 мм левее сагиттальной плоскости и 5,0-5,5 мм относительно поверхности полушария. Кору стимулировали монополярными отрицательными прямоугольными импульсами тока (сила 150–200 мкА, частота 50 имп/с, длительность 1 мс).



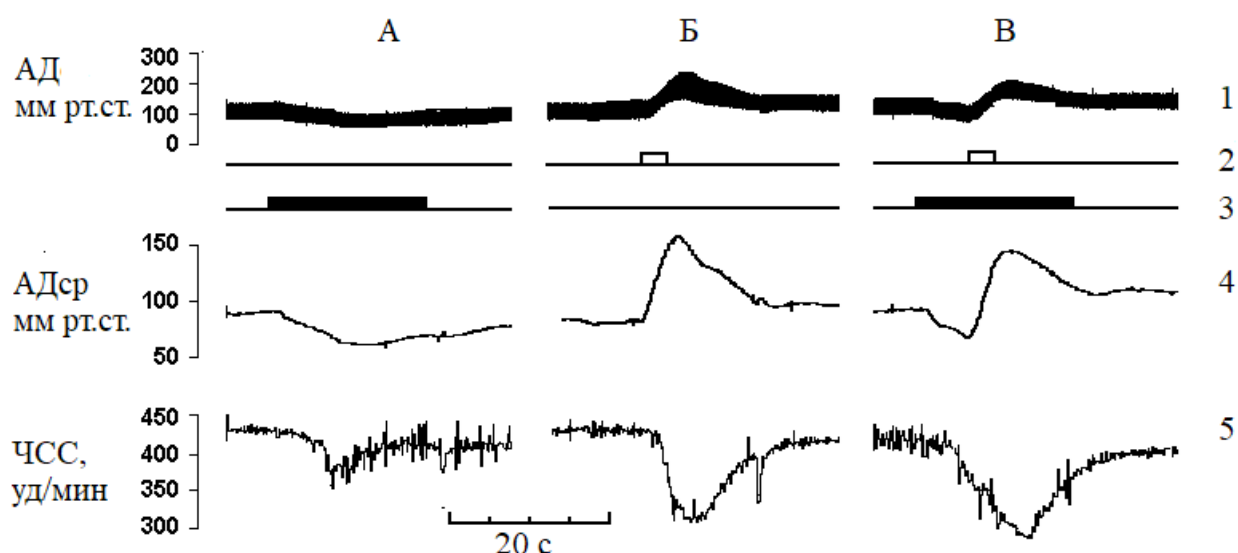


Рис. 6.2. Эффекты предъявления экспериментальных стимулов в контрольном эксперименте.

А – электрическая микроstimуляция ИНС, Б - введение ФЭ, В - введение ФЭ на фоне стимуляции ИНС.

1 - оригинальная запись АД, 2 – отметка введения ФЭ, 3 – отметка электрической микроstimуляции ИНС, 4 – изменения АДср, 5 – изменения ЧСС.

Для определения величины slopes, характеризующего БРЧ, то есть наклона линии, аппроксимирующей зависимость между величиной снижения АДср и рефлекторным ростом ЧСС, на записях, отражающих увеличение АДср и, соответственно, снижение ЧСС, вызванное введением ФЭ, определяли интервал в 2,0-2,5 секунды, в течение которого оба параметра изменялись линейно. В этом интервале определяли величину увеличения АДср ( $\Delta$ АДср) и величину снижения ЧСС ( $\Delta$ ЧСС). Slopes рассчитывали, как отношение

$$\Delta\text{ЧСС (уд}\cdot\text{мин}^{-1}) / \Delta\text{АДср (мм рт. ст.)} = \text{slopes (уд}\cdot\text{мин}^{-1}/\text{мм рт. ст.)}.$$

Влияние микроэлектростимуляции коры на БРЧ оценивали, рассчитывая величину slopes для реакции на фоне электрической микроstimуляции и выражая её в процентах к величине slopes, установленной в предшествующем тесте с введением ФЭ.

## 6.2. Результаты контрольных экспериментов

Расчёты показали, что в контрольных экспериментах начальная величина АДср, измеренная на 10-й минуте, составляла в среднем  $94 \pm 5$  мм рт. и колебания АДср по ходу эксперимента были в пределах статистической погрешности ( $p=0,95$ ). В тот же момент времени ЧСС равнялась в среднем  $370 \pm 17$  уд/мин и изменения этого показателя по ходу эксперимента также оказались статистически недостоверными ( $p=0,99$ ).

Электрическая микроstimуляция ИНС стереотипно вызывала кратковременное падение АДср, которое сопровождалось снижением ЧСС (рис. 6.2, А). При первом измерении, на 30-й минуте регистрации, величина депрессорного ответа на стимуляцию

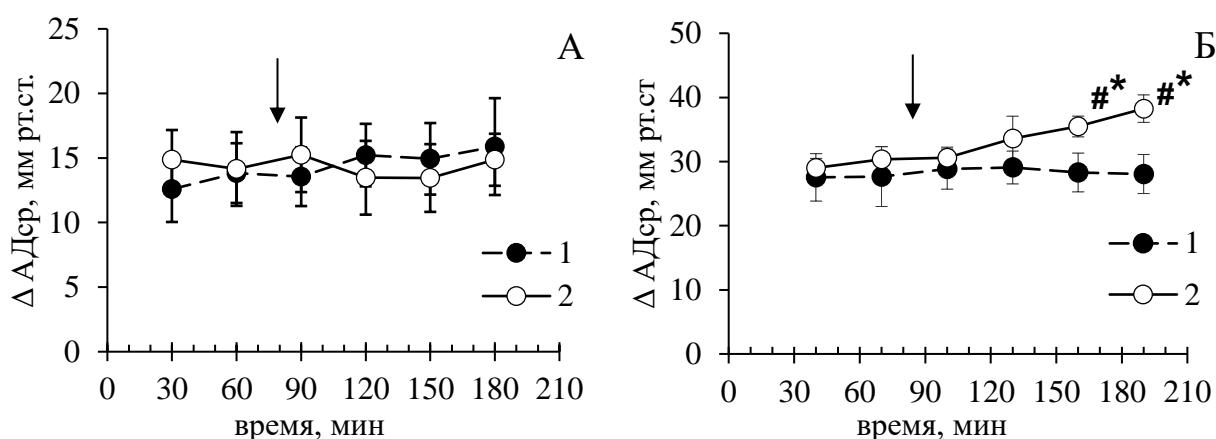


Рис.6.3. Реакция системы кровообращения анестезированной крысы на электрическую микроstimуляцию ИНС (А) и микроинфузию раствора, содержавшего ФЭ (Б).

По осям ординат: А – абсолютная величина депрессорных ответов, Б – амплитуда прессорной реакции. По осям абсцисс: время от начала эксперимента.

1 – контрольные эксперименты, 2 – эксперименты с введением ФЭ.

Стрелки – момент введения растворов.

\* - отличие от исходной величины достоверно при  $p < 0,05$  ; # - отличие от контроля достоверно при  $p < 0,05$

ИНС составляла в среднем  $12 \pm 2,5$  мм рт. ст., брадикардический эффект равнялся  $12,7 \pm 2,1$  уд/мин. Изменения указанных величин по ходу эксперимента также оказались статистически недостоверными (рис.6.3, А).

Инфузии ФЭ вызывали кратковременное повышение АДср и рефлекторное снижение ЧСС (рис. 6.2, Б). При первой инфузии на 40-й минуте АДср в контрольной группе увеличилось в среднем на  $27 \pm 3,7$  мм рт. ст., а ЧСС понизилась на  $54 \pm 3,4$  уд/мин, а величина БРЧ составляла  $2,00 \pm 0,28$  уд·мин<sup>-1</sup>/мм рт. ст. В дальнейшем прессорная реакция АДср на введение ФЭ (рис. 6.3, А) и рефлекторное снижение ЧСС в ответ на повышение АД не претерпевали достоверных изменений. Величина БРЧ также оказалась стабильной величиной, поскольку снижение слопа, которое наблюдалось в этой серии экспериментов оказалось недостоверным. (рис. 6.4, А).

При тестировании БРЧ на фоне продолжающейся стимуляции ИНС первоначальное снижение АДср было эффектом микроstimуляции ИНС, а последующий рост — результатом введения ФЭ (рис. 6.2, В). В этом тесте, первоначальная величина слопа, установленная на 50-й минуте равнялась  $1,14 \pm 0,11$  уд·мин<sup>-1</sup>/мм рт. ст., что составляло в среднем  $60 \pm 7\%$  от величины слопа, установленного в предыдущем тесте на 40-й минуте. На фоне микроstimуляции ИНС слопа уменьшался, то есть микроэлектростимуляция ИНС снижала БРЧ, причём этот эффект сохранялся до конца эксперимента (рис. 6.4, Б).

Таким образом, в контрольной серии экспериментов системные параметры кровообращения, также как её реакция на электрическую микроstimуляцию ИНС были

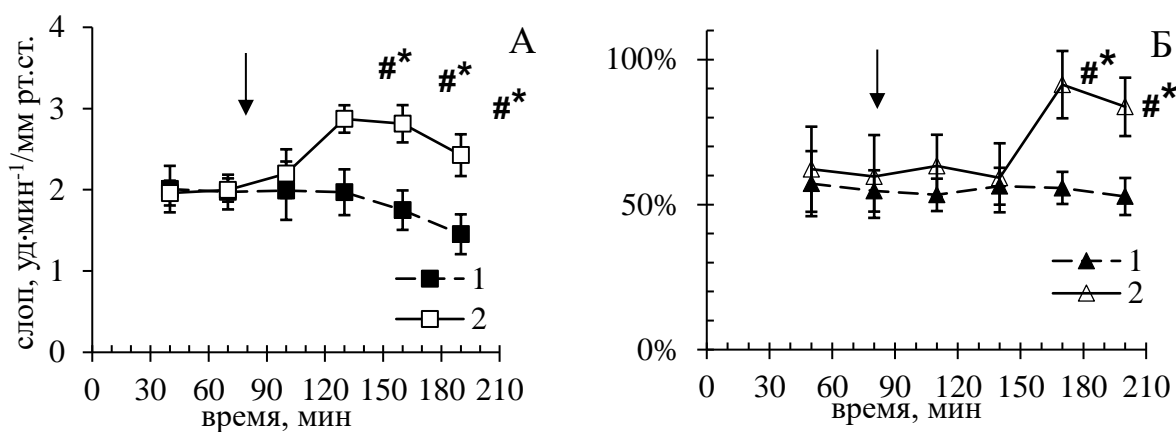


Рис.6.4. Изменение БРЧ (А) и влияние на неё электрической микроstimуляции ИНС (Б). По осям ординат: А – абсолютная величина слопа, характеризующая уровень БРЧ, Б – слопа на фоне стимуляции ИНС, выраженная в процентах к величине слопа в предыдущем тесте без стимуляции. По осям абсцисс: время от начала эксперимента. Прочие обозначения – как на предыдущем рисунке.

стабильны. Стабильной была и величина БРЧ, а также реакция этого показателя на электрическую микроstimуляцию ИНС.

### 6.3. Результаты экспериментов с введением дексаметазона

В экспериментальной группе на 10-й минуте эксперимента АДср составляло  $99 \pm 4$  мм рт. ст. и эта величина не имела значимых отличий от величины, полученной в контрольных экспериментах ( $p=0,58$ ). Статистически незначимыми оказались и колебания АДср в течение эксперимента ( $p=0,95$ ). Исходные значения ЧСС в этой группе составили  $343 \pm 17$  уд/мин, что не отличалось от соответствующего показателя в контрольной группе ( $p=0,98$ ); к концу эксперимента ЧСС повышалась в среднем до  $410 \pm 17$  уд/мин на 180-й минуте, однако это увеличение оказалось статистически незначимым ( $p=0,09$ ).

Электрическая микроэлектростимуляция ИНС в серии с введением ДМ вызывала такие же системные ответы, как и в контрольной серии. Исходная величина депрессорного компонента этих ответов составила  $14,9 \pm 2,5$  мм рт. ст., а брадикардического  $13,9 \pm 1,7$  уд/мин. Различия между этими величинами и соответствующими величинами в контрольной группе оказались статистически недостоверными ( $p=0,38$  и  $p=0,41$ ). Достоверных изменений эффекта стимуляции ИНС после введения ДМ обнаружено не было (рис. 6.3, А).

Абсолютная величина прессорной реакции на ФЭ на 40-й минуте, то есть при первой инфузии составляло в среднем  $29 \pm 1,5$  мм рт. ст., то есть не имела статистических отличий от величины, полученной в предыдущей серии ( $p=0,99$ ). Однако было обнаружено, что введение ДМ приводило к достоверному ( $p=0,04$ ) усилению эффекта ФЭ (рис. 6.3, Б). Усиление ответов на ФЭ началось через 50 мин после введения ДМ, на 160-й и 190-й мин

ответы были достоверно выше исходных и соответствующих им контрольных значений ( $p < 0,05$ ). Исходное значение слопа, то есть показателя БРЧ, в группе с ДМ составляло в среднем  $1,96 \pm 0,15$  уд·мин<sup>-1</sup>/мм рт. ст., отличие от показателя в контрольной группе оказалось недостоверным ( $p = 0,99$ ). Под влиянием ДМ происходило увеличение БРЧ по сравнению с исходной величиной и значениями в контрольных экспериментах (рис. 6.4, А). Этот эффект проявлялся через 50 минут после введения ДМ и сохранялся до конца эксперимента.

Ещё одним эффектом ДМ, который проявился в этой серии экспериментов, стало ослабление влияния микростимуляции ИНС на БРЧ (рис. 6.4, Б). Этот эффект, который первоначально был обнаружен в контрольной серии, проявлялся до введения ДМ и в течение 70 мин после момента введения, однако затем достоверно ( $p = 0,03$ ) ослабевал.

Таким образом, системные показатели кровообращения в серии с введением ДМ не имели достоверных отличий от показателей, зарегистрированных в контрольной серии. Введение ДМ не оказывало существенного влияния на АДср и ЧСС и состояние сердечно-сосудистой системы анестезированной крысы в этой серии было стабильным. Вместе с тем, под влиянием ДМ происходило усиление реакции АД на введение ФЭ и усиление БРЧ. Величина ответов на электрическую микростимуляцию ИНС после инфузии ДМ не изменялась, однако ДМ устранял модулирующее влияние микроэлектростимуляции ИНС на БР.

#### **6.4. Обсуждение результатов**

Эксперименты контрольной серии показали отсутствие достоверных изменений системных параметров кровообращения, прессорной реакции на введение ФЭ и БРЧ. Не было обнаружено также изменения депрессорной реакции на электрическую микростимуляцию ИНС и модулирующего влияния микростимуляции на БРЧ. Эти результаты подтвердили, что условия эксперимента обеспечивали стабильное состояние системы кровообращения, а также центральных нервных механизмов, осуществляющих контроль этой системы.

До введения ДМ значения системных показателей кровообращения (АД и ЧСС), величина прессорной реакции на ФЭ, БРЧ и эффекты стимуляции ИНС были стабильны и не имели статистически значимых отличий от соответствующих величин, полученных в контрольных экспериментах. Этот факт также указывает на адекватность условий эксперимента. Введение ДМ не влияло на системные показатели кровообращения, но приводило к усилению реакции на введение ФЭ, увеличению БРЧ и ослаблению модулирующего эффекта стимуляции ИНС на БР, при том, что прессорный эффект

электрической микростимуляции ИНС сохранялся неизменным и не отличался от эффекта, зарегистрированного в контрольной серии.

Приступая к непосредственно к обсуждению полученных результатов, следует прежде всего, отметить, что механизмы, реализующие эффекты ГК исключительно разнообразны, а взаимодействие ГК с ГКР активирует многочисленные сигнальные пути, как геномные, так и негеномные. Установлено, в частности, что ГК могут модулировать синаптическую передачу за счет взаимодействия с ГКР на мембране клеток, которые, в свою очередь, активируют G-белок, что вызывает быстрые, длительностью несколько минут, реакции (French-Mullen, 1995; Di et al., 2005). Эффекты взаимодействия ГК с цитоплазматическими ГКР более отставленные, поскольку являются следствием экспрессии определённых генов и синтеза специфических белков (De Kloet et al., 1998; Makara, Haller, 2001). Такие эффекты проявляются не раньше, чем через полчаса после предъявления ГК, а обычная скорость их развития – от часа и более (Dyanithi, Antoni, 1989). Таким образом, в течение часа после введения ГК геномные и негеномные эффекты могут накладываться и отделить их друг от друга в экспериментах *in vivo* не всегда возможно. Кроме того, известно, что природные ГК могут взаимодействовать не только с ГКР, но и с минералокортикоидными рецепторами, что ещё более усложняет выяснение механизмов их действия. Вместе с тем, установлено, что некоторые синтетические ГК, в частности, использованный в настоящем исследовании ДМ, реализуют свои эффекты почти исключительно через ГКР (Timmermans et al., 2019).

Одним из известных эффектов ГК является их способность потенцировать действие адреномиметиков за счёт увеличения количества  $\alpha$ -адренорецепторов на мембране клеток, а также путем влияния на процесс связывания  $\alpha$ -адренорецепторов с G-белком (Haigh, Jones, 1990). Этим эффектом объясняется способность ГК повышать чувствительность гладких мышц сосудов к катехоламинам, усиливая их сокращение, так же, как и способность ГК повышать АД (Rascher et al., 1980; Handa et al., 1984; Russo et al., 1990; Yang, Zhang 2004). Этот специфический негеномный эффект ГК был обнаружен и исследован в экспериментах *in vitro* (Haigh, Jones, 1990; Gros et al., 2007; Zhang et al., 2013). Кроме того, экспериментами, также выполненными *in vitro*, было показано, что ДМ оказывает быстрый потенцирующий эффект на сокращение гладкомышечных клеток сосудов, вызванное действием норэпинефрина, этот эффект опосредуется специфическими негеномными механизмами (Zhang et al., 2013). Поскольку сокращение гладких мышц сосудов приводит к уменьшению просвета сосудов и повышению периферического сопротивления, то можно было ожидать повышения АД под влиянием ДМ. Однако в наших экспериментальных условиях ДМ оказывал потенцирующее действие на прессорный

эффект ФЭ, но не оказывал влияния на АД. Очевидно, что увеличение ответов на ФЭ после введения ДМ было вполне ожидаемым эффектом, который объясняется потенцирующим действием ДМ на  $\alpha$ -адренорецепторы сосудов. Что касается отсутствия влияния ДМ на АД, то, судя по литературным данным, гипертензивный эффект ДМ при внутривенном введении крысам, обычно достигается повторным введением относительно высоких доз этого ГК. Например, стойкий гипертензивный эффект наблюдался при введении 1-5 мкг ДМ животному в течение 36 дней (Tonolo et al., 1988) или 2 мг/кг в течение 7 дней (Macedo et al., 2020), в то время как введение 1 мг/кг в течение 5 дней не приводило к изменениям АД (Duchatsch et al., 2018). Таким образом, вводимая нами доза ДМ, равная 1,5 мг/кг, при однократном предъявлении была, по-видимому, слишком мала, чтобы вызвать заметные изменения АД. С другой стороны, она оказалась достаточной для того, чтобы оказать потенцирующее действие на прессорный эффект ФЭ.

Усиление БРЧ стало ещё одним эффектом, который был обнаружен в рассматриваемой серии экспериментов. Было обнаружено, что ДМ увеличивал БРЧ у крыс, анестезированных уретаном, причем этот эффект проявлялся через 20 минут после введения ДМ; через 50 минут она стала значимой и оставалась на достигнутом уровне до конца эксперимента. Временная динамика эффекта указывает на то, что он мог иметь смешанную природу, так что за первоначальным негеномным эффектом последовал геномный эффект. Как известно, БР является важным нервным механизмом, который обеспечивает краткосрочный (Dampney, 2016) и, вероятно, долгосрочный контроль АД (Barrett, Malpas, 2005; Thrasher, 2006). Известно, что чувствительность БР к колебаниям АД изменяется под влиянием многих нервных и гуморальных факторов, в том числе в зависимости от системного уровня ГК. Было обнаружено, в частности, что повышение системного уровня природных ГК является причиной снижения БРЧ при стрессе (Scheuer 2010, Vieira et al., 2018), однако введение кортизола здоровым добровольцам, напротив, усиливало БР (Schulz et al., 2020). Инъекции гидрокортизона уменьшали БРЧ испытуемых (Adlan et al. 2018), а исследования на животных показали, что системное введение гидрокортизона бодрствующим крысам уменьшает наклон и смещало вправо среднюю точку контроля ЧСС, то есть ослабляло БРЧ (Scheuer, Bechtold, 2002). Кроме того, было установлено, что синтетический ГК бетаметазон ослаблял БРЧ у ягнят (Segar et al., 2001). Источники, в которых содержатся сведения об изменении БРЧ под влиянием ДМ, немногочисленны и в них также показано смещение кривой, связывающей частоту сердечных сокращений с давлением, в правую сторону (Dodic et al., 1999; Segar et al., 2006). Однако эти исследования проводились на новорожденных животных, которым вводили препарат пренатально на ранней стадии гестации, причём животные были спонтанно

гипертензивными, что могло способствовать ослаблению БРЧ. Данные о влиянии ДМ на БРЧ анестезированных лабораторных крыс были впервые получены в настоящем исследовании, и они доказывают, подобно процитированным выше источникам, возможность изменения БРЧ под влиянием повышенного уровня ГК. Направленность этих изменений в сторону повышения или снижения БРЧ зависит, по-видимому, от конкретных условий эксперимента, а в естественных условиях от степени и длительности активации НРА. Возможно, что в наших условиях эффект ослабления БРЧ просто не успевал проявиться.

Обсуждения заслуживает вопрос о возможных механизмах, реализующих влияние повышенного системного уровня ГК на БР. Системный эффект ГК может быть связан с их воздействием на барорецепторы (Scheuer, Bechtold, 2002). Однако постепенное снижение БРЧ также наблюдалось у бодрствующих крыс после длительного воздействия ГК на поверхность продолговатого мозга (Bechtold, Scheuer, 2006). Поэтому можно предполагать, что ДМ оказывал своё действие и непосредственно на нейроны, образующие дугу БР. Дуга БР образована нейронами нескольких последовательно связанных структур центральной нервной системы: ядра солитарного тракта, где расположены окончания висцеральных афферентов, проходящих в составе блуждающего нерва; каудальной части вентролатеральной области продолговатого мозга, а также структур, формирующими эфферентный выход из этой цепи, в том числе ростральной части вентролатеральной области продолговатого мозга, дорсального моторного ядра блуждающего нерва и двойного ядра (Dampney et al., 2003; Wehrwein, Joyner 2013; Dampney, 2016). Интенсивная экспрессия рецепторов ГКР была обнаружена в ЯСТ и в вентролатеральной области продолговатого мозга (Cintra et al., 1994). Этот факт также свидетельствует в пользу предположения о том, что изменение BRS при повышении системного уровня ГК могло быть следствием влияния на нейроны, образующие дугу БР.

Установлено, что терминалы висцеральных афферентов содержат глутамат (ГЛУ), а центральные и эфферентные компоненты цепи БР включают ГЛУ-ергические нейроны (Neff et al., 1998; Mandel, Schreihofner, 2008). Висцеральные сенсорные нейроны, чьи афференты заканчиваются в ЯСТ, не только секретируют ГЛУ, но также экспрессируют ГЛУ-рецепторы (Blackshaw et al., 2011). Эксперименты, проведенные *in vitro*, показали, что кортикостерон и ДМ могут быстро ингибировать высвобождение ГЛУ из окончаний афферентов блуждающего нерва в ЯСТ путем взаимодействия с ГКР (Ragozzino et al., 2020). По другим данным, полученным в исследованиях на бодрствующих добровольцах, ГК не влияют на бароафферентный трафик *in vivo*, однако модулируют его трансляцию в моторный выход, влияя на центральные и эфферентные компоненты дуги БР (Schulz et al.,

2020). Показано, что ГК могут оказывать быстрое облегчающее действие на высвобождение ГЛУ в центральных синапсах (Venero, Borell, 1999; Karst et al., 2005, Pasricha et al., 2011; Treccani et al., 2014). Однако этот быстрый негеномный эффект обусловлен взаимодействием ГК с минералокортикоидными рецепторами, а ДМ, использованный в наших экспериментах, обладает минимальной минералокортикоидной активностью (Nicolaidis et al., 2000). Другими экспериментами, выполненными *in vitro* было установлено, что ДМ оказывает быстрое и разнонаправленное действие в центральных синапсах, подавляя высвобождение ГЛУ и облегчая высвобождение гаммааминомасляной кислоты (ГАМК) за счет взаимодействия с мембранными ГКР (Di et al., 2005). Кроме того показано, что ГК способны модулировать активность ГАМК-рецепторов, повышая их аффинность и усиливая ГАМК-опосредованное торможение в головном мозг (Majewska et al., 1985; Derbenev, Smith, 2013). Модуляция активности ГАМК-рецепторов, расположенных на нейронах, входящих в состав дуги БР, может способствовать снижению симпатического драйва, поступающего к сердцу и усилению барорефлекторной реакции на повышение АД. Возможность такого эффекта ДМ была подтверждена прямыми экспериментами *in vivo* с его введением в ЯСТ (Wang et al., 2005). По-видимому, именно этот эффект является причиной первоначального усиления БРЧ, которое наблюдалось в наших экспериментах, а дальнейшее усиление БРЧ, является следствием геномного действия ДМ.

Рассматривая эффекты электрической микроstimуляции ИНС, следует иметь в виду два обстоятельства. Прежде всего, известны прямые нисходящие моносинаптические проекции из ИНС к структурам продолговатого мозга, которые образованы ГЛУ-ергическими пирамидными нейронами V слоя (Kapp et al., 1985; Torrealba, Müller 1996; Aleksandrov et al., 1996; Gasparini et al., 2020). С другой стороны, система кровообращения, как и другие автономные системы, работает под контролем центральной автономной сети, которая включает в себя области префронтальной коры, в том числе ИНС, а также ряд подкорковых структур и структур ствола головного мозга. (Benarroch, 1993; Kimmerly, 2017). Структуры, входящие в состав ЦАС охвачены многочисленными, нередко реципрокными связями, а также образуют нисходящие проекции к бульбарным автономным центрам. Экспериментальное воздействие на узлы этой сети приводит к изменению состояния её выходов, которые образованы преганглионарными нейронами автономной нервной системы и бульбоспинальными респираторными нейронами. Соответственно, эффекты электрической микроstimуляции ИНС можно рассматривать с точки зрения прохождения сигнала, возникшего в этой области коры по моно- и полисинаптическим путям, связывающим ИНС с бульбарными автономными центрами.



В наших экспериментах электрическая микроstimуляция ИНС вызывала депрессорные ответы со стороны системы кровообращения, подобные тем, которые неоднократно описывали другие авторы (Hardy, Holmes, 1988; Hardy, Mack, 1990; Yasui et al., 1991; Sun, 1992). В своё время было доказано, что депрессорные ответы на стимуляцию ИНС являются следствием ГАМК-эргического ингибирования симпатозбуждающих нейронов в ростральной части вентролатеральной области продолговатого мозга (Sun, 1992). Было установлено, что эти ответы не исчезают после прерывания синаптической передачи в ЯСТ (Cechetto, Chen, 1990), но введение иботеновой кислоты в латеральную гипоталамическую область подавляло их (Hardy, Mack, 1990). Предполагается, что депрессорные реакции на стимуляцию ИНС не являются результатом активации прямых кортикобульбарных проекций, а опосредованы синаптическими реле в латеральной гипоталамической области, которые затем модулируют активность пресимпатических нейронов ростральной и, возможно, каудальной части вентролатеральной области продолговатого мозга (Cechetto, Chen, 1990). Аналогичный механизм был установлен для медиальной префронтальной коры (Verberne, 1996).

Эксперименты, описанные в настоящей главе, показали, что электрическая микроstimуляция ИНС приводит к ослаблению БРЧ и это доказывает, что ИНС может участвовать не только в контроле текущего паттерна активности системы кровообращения и других автономных систем, но и способна модулировать активность их рефлекторных механизмов. Полученный результат также согласуется с результатами предыдущих исследований. Известно, в частности, что обширные повреждения коры больших полушарий крыс, охватывающее в том числе и ИНС, приводят к усилению БРЧ, что указывает на возможную тормозящую роль ИНС по отношению к барорефлексу (Saad et al., 1989). Тот же эффект имело более локализованное электролитическое разрушение ИНС у крыс, анестезированных уретаном (Zhang et al., 1998). Кроме того, снижение уровня оксида азота в ИНС усиливало рефлекторный брадикардический ответ на повышение АД, что также свидетельствует об ингибирующем влиянии NO-эргических внутриинсулярных путей (Ferreira-Junior et al., 2020). С другой стороны, нарушение синаптической передачи внутри ИНС бодрствующих крыс путём микроинъекции эту область коры хлорида кобальта, селективного антагониста глутаматных рецепторов NMDA-типа LY235959, а также неселективного блокатора  $\beta$ -адренорецепторов пропранолола, приводило к ослаблению БРЧ (Alves et al., 2009). Есть и другие работы, в которых также демонстрируется модулирующее действие ИНС на БР (Saleh, Connell, 1998; Nagai et al., 2010). Таким образом, наши результаты согласуются с результатами, ранее полученными другими авторами: ИНС кора способна оказывать модулирующее действие на БР, усиливая

или ослабляя его. Направленность эффекта экспериментального воздействия на ИНС может, по-видимому, меняться в зависимости от условий эксперимента.

Было обнаружено, что ДМ не действует на депрессорные реакции, но ослабляет влияние электрической стимуляции на БРЧ. Этот факт позволяет предположить, что описанные эффекты реализуются относительно независимо друг от друга и, по-видимому, по разным путям. Известно, что введение транссинаптических маркеров в блуждающий и аортальный депрессорные нервы приводит к появлению меченых нейронов в ИНС (Blessing et al. 1991; Gieroba et al. 1991). Эта область коры связана, как уже указывалось, многочисленными нисходящими проекциями с другими структурами ЦАС, нейроны которых, в свою очередь, посылают аксоны в ЯСТ. Следовательно, ИНС может, в принципе, модулировать активность нейронов ЯСТ, которые получают сигналы от барорецепторов аорты и других висцеросенсорных афферентов по полисинаптическим путям. Кроме того, давно известно, что ИНС образует прямые нисходящие проекции к ЯСТ (Neafsey et al., 1986; Saper, 1982; Shipley, 1982; van der Kooy et al., 1984; Yasui et al., 1991), но, как уже отмечалось, депрессорные реакции в ответ на стимуляцию ИНС не исчезают после прерывания синаптической передачи в ЯСТ и, следовательно, эти депрессорные реакции не являются результатом активации прямых кортикобульбарных путей. Поскольку в наших экспериментах ДМ не изменял величину депрессорных ответов на стимуляцию ИНС, следует признать, что он не влиял на передачу сигнала в полисинаптических путях, соединяющих ИНС и продолговатый мозг. Следует предположить, что торможение БР при стимуляции ИНС реализуется через прямые моносинаптические проекции ВК в продолговатый мозг. Являясь одним из наиболее важных нейротрансмиттеров, ГЛУ модулирует синаптическую передачу, действуя как пре-, так и постсинаптически. В свою очередь, висцеральные сенсорные нейроны, чьи афференты заканчиваются внутри ЯСТ, не только секретируют ГЛУ, но также экспрессируют рецепторы ГЛУ (Blackshaw et al., 2011). Пресинаптические метаботропные рецепторы ГЛУ служат ауторецепторами в ЦНС, ингибируя высвобождение ГЛУ и подавляя ГЛУ-ергическую передачу. В частности, активация пресинаптических mGluRs подавляет нейротрансмиссию между первичными вегетативными афферентными волокнами и нейронами ЯСТ второго порядка (Chen et al. 2002). Установлено, что висцеросенсорные нейроны, образующие окончания афферентов блуждающего нерва, экспрессируют метаботропные глутаматные рецепторы II и III типов, которые обычно участвуют в процессах торможения. Было показано, что эти рецепторы могут регулировать активность висцеральных сенсорных афферентных нейронов посредством ингибирования потенциалзависимых калиевых каналов (Hay, Lindsley, 1995). Активация пресинаптических метаботропных глутаматных рецепторов и угнетение

активности висцеросенсорных афферентов могут происходить под влиянием ГЛУ, который высвобождается из терминалей, образованных пирамидными нейронами, иннервирующими ЯОТ, и таким образом, по-видимому, реализуется ингибирующее действие ИНС на БР. По нашим данным, ДМ устраняет ингибирующее действие ИНС на БР, и это определенно геномный эффект, проявляющийся только через 2 часа после введения ДМ. По времени этот эффект совпадает с эффектом усиления БР, и, по нашему мнению, между этими процессами существует причинно-следственная связь, а именно ослабление ингибирующего действия ИНС на БР проявляется в усилении БРЧ. Полученные результаты подтверждают выдвинутую гипотезу и позволяют предположить, что ГК могут устранять ингибирующее воздействие ИНС на дугу БР, тем самым усиливая БРЧ.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Целью настоящей диссертационной работы была экспериментальная проверка гипотезы, в соответствии с которой развивающаяся реакция иммунной и эндокринной систем на повышение системного уровня важнейшего эндотоксина, бактериального ЛПС, приводит к нарушению центральных нервных механизмов, осуществляющих контроль функций дыхания и кровообращения. Предполагалось, что эта гипотеза будет считаться подтверждённой в том случае, если в модельных экспериментах на анестезированном животном удастся обнаружить влияние экзогенного повышения системного уровня бактериального ЛПС, одного из провоспалительных цитокинов и глюкокортикоидного гормона на рефлекторные механизмы систем дыхания и кровообращения, а также на центральную автономную сеть.

Системное или местное введение бактериального ЛПС является обычным методическим приёмом, который используется для моделирования эффектов эндотоксинемии в различных экспериментальных условиях. Эта модель, тем не менее, требовала верификации, поскольку запланированные острые эксперименты имели свои особенности: они предполагали однократное системное введение ЛПС и использование в качестве анестетика уретана. Анализ количества и состава лейкоцитов анестезированных крыс, интактных и подвергнутых ложной операции, показал, что под влиянием ЛПС происходит снижение количества лейкоцитов крови, главным образом, за счёт нейтрофилов. Кроме того, было установлено, что ЛПС вызывал первоначальное повышение и последующее снижение АД, рост ЧСС, а также увеличение МОД анестезированной крысы, что указывало на развивающуюся гипервентиляцию. Подобные изменения в состоянии систем крови, кровообращения и дыхания характерны для системной воспалительной реакции, которая развивается в естественных условиях в ответ на повышение системного уровня эндотоксина (Hotchkiss et al., 2016; Nault et al., 2020; Amorim et al., 2019). Таким образом, была доказана адекватность используемой модели эндотоксинемии и, следовательно, решена первая задача экспериментального исследования.

Эксперименты, выполненные на этой верифицированной модели, показали, что повышение системного уровня ЛПС приводит к ослаблению рефлекторных механизмов, регулирующих уровень артериального давления и реализующих объёмно-зависимую обратную связь в системе дыхания анестезированной крысы. Кроме того, было установлено, что в тех же самых экспериментальных условиях экзогенное повышение системного уровня бактериального липополисахарида приводит к ослаблению реакции

системы кровообращения на микроэлектростимуляцию области коры, входящей в состав центральной автономной сети и участвующей в контроле рефлекторных реакций систем дыхания и кровообращения. Эти результаты доказали, что в условиях эндотоксинемии может происходить ослабление механизмов, обеспечивающих центральный контроль функций дыхания и кровообращения. Вторая задача экспериментального исследования была выполнена, однако цель диссертационной работы предполагала исследование изменения состояния центральных механизмов контроля кровообращения и дыхания по мере развития реакции систем организма на эндотоксин.

Эндотоксинемия запускает сложный каскад процессов, каждый из которых может иметь своим результатом изменение центральных механизмов автономного контроля. Важнейшим этапом развивающейся реакции организма на повышение системного уровня эндотоксина является реакция иммунной системы в виде повышения системного уровня цитокинов. Принимая во внимание тот факт, что рецепторы к цитокинам присутствуют в центральной нервной системе (Ramseyer, Garvin 2013), можно было предполагать влияние цитокинов на рефлекторные механизмы, регулирующие кровообращение и дыхание. Тем более, что рецепторы к провоспалительным цитокинам обнаружены в областях продолговатого мозга, где расположены нейроны, участвующие в замыкании рефлекторных дуг барорефлекса и инспираторно-тормозящего рефлекса (Wehrwein, Joynes, 2013, Pérez-Atencio et al., 2021; Меркулова и др., 2007). Моделирование состояния гиперцитокинемии в настоящем исследовании показало, что повышение системного уровня одного из основных провоспалительных цитокинов ФНО- $\alpha$ , приводит к изменению активности рефлекторных механизмов систем кровообращения и дыхания. При этом, обнаруженные эффекты ФНО- $\alpha$  не проявляются на фоне действия неспецифического блокатора циклооксигеназы-2, диклофенака, и, следовательно, реализуются путём усиленного синтеза простагландинов. Таким образом, третья и четвертая задачи экспериментального исследования были выполнены, а полученные результаты показали, что повышение системного уровня ФНО- $\alpha$ , которое имеет место при гиперцитокинемии, способствует изменению силы рефлекторных реакций систем кровообращения и дыхания. Одной из причин этих изменений может быть то, что повышение системного уровня ФНО- $\alpha$  приводит к повышению системного уровня простагландинов вследствие активации циклооксигеназного пути синтеза этих физиологически активных веществ.

Эндотоксинемия является экстремальным фактором, стрессором, вызывающим активацию гипоталамо-гипофизарно-адреналовой оси и повышение системного уровня глюкокортикоидов. Этот эффект является следствием влияния провоспалительных цитокинов на гипоталамо-гипофизарно-адреналовую ось (Beishuizen, Thijs, 2003).

Моделирование этого эффекта эндотоксинемии в острых экспериментах на анестезированных крысах показало, что системное введение глюкокортикоида дексаметазона усиливало барорефлекторную чувствительность и устраняло модулирующий эффект электрической микростимуляции висцеральной коры на барорефлекс. Поскольку модулирующий эффект микростимуляции коры на барорефлекс проявлялся в ослаблении барорефлекторной чувствительности, можно предполагать, что усиление барорефлекторной чувствительности под влиянием дексаметазона по крайней мере отчасти является следствием ослабления кортикального контроля этого рефлекса. Результаты, полученные при решении последней задачи экспериментального исследования, подтверждают предположение о том, что повышение системного уровня глюкокортикоидов, которое имеет место при эндотоксинемии, также является фактором, влияющим на состояние рефлекторных механизмов и центральной автономной сети.

Резюмируя полученные результаты, можно утверждать, что на разных этапах развития реакции организма на повышение системного уровня бактериального липополисахарида происходят разнонаправленные изменения активности рефлекторных механизмов, регулирующих функции кровообращения и дыхания. Причиной этих изменений является активация циклооксигеназного пути синтеза простагландинов и усиленная выработка глюкокортикоидных гормонов в результате повышения системного уровня провоспалительных цитокинов. Кроме того, в условиях эндотоксинемии изменяется состояние центральной автономной сети, осуществляющей контроль автономных функций, на что указывает ослабление эффектов электрической микростимуляции областей автономной коры. Эти результаты позволяют сделать заключение о том, что выдвинутая гипотеза получила экспериментальное подтверждение и, следовательно, цель настоящего диссертационного исследования была достигнута.

## ВЫВОДЫ

1. Моделирование состояния эндотоксинемии на крысах, анестезированных уретаном, путём системного введения ЛПС действительно позволяет воспроизводить реакции систем крови, кровообращения и дыхания, близкие к симптомам синдрома системной воспалительной реакции.
2. Эндотоксинемия является фактором, который приводит к нарушению центрального контроля систем дыхания и кровообращения вследствие ослабления рефлекторных реакций этих систем и способности центральной автономной сети модулировать их активность.
3. Повышение системного уровня провоспалительных цитокинов, в частности ФНО- $\alpha$ , которое является следствием эндотоксинемии, приводит к изменениям силы рефлекторных реакций систем кровообращения и дыхания.
4. Влияние провоспалительного цитокина ФНО- $\alpha$  на параметры активности систем кровообращения и дыхания, а также на рефлекторные механизмы этих систем является следствием активации циклооксигеназного пути синтеза простагландинов.
5. Повышение системного уровня глюкокортикоидов вследствие активации гипоталамо-гипофизарно-адреналовой оси в условиях эндотоксинемии может быть фактором, влияющим на рефлекторные реакции кардиореспираторной системы и процессы их модуляции центральной автономной сетью.

**СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ЛИТЕРАТУРНЫХ ИСТОЧНИКОВ**

1. Авдеева, М. Г. Инфекционный процесс и системный воспалительный ответ / М. Г. Авдеева, В. В. Лебедев, М. Г. Шубич / ред. М. Т. Абидова. – Нальчик: Полиграфсервис и Т. – 2010. – 326 с.
2. Автономные функции префронтальной коры / В. Г. Александров, Т. Н. Кокурина и др. // Физиология человека. – 2021. – Т. 47. – №5. – С. 110-117.
3. Адаптивные механизмы барорефлекторной регуляции сердечно-сосудистой системы при экстремальной гипероксии / С. Ю. Жилияев, Т. Ф. Платонова и др. // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 2019. – Т. 55. – №5. – С. 316–323.
4. Александров, В. Г. Процессы интеграции функций в церебровисцеральной оси / В. Г. Александров // Интегративная физиология: Всероссийская конференция с международным участием, посвященная 170-летию со дня рождения И.П. Павлова. - Тезисы докладов. – СПб.: Ин-т физиологии им. И.П. Павлова РАН. – 2019. – С. 17-18.
5. Александров, В. Г. Церебровисцеральная ось / В. Г. Александров // Нейронаука для медицины и психологии: XV Международный междисциплинарный конгресс. Судак, Крым, Россия; 30 мая – 10 июня 2019 г.: Труды Конгресса / ред. Е. В. Лосевой, А. В. Крючковой, Н. А. Логиновой. – Москва: МАКС Пресс. – 2019. – С. 56-57.
6. Барбараша, Л. С. Системный воспалительный ответ в кардиохирургии / ред. Л. С. Барбараша, Е. В. Григорьева. – Кемерово: Кузбассвузиздат. – 2013. – С. 149.
7. Бреслав, И. С. Регуляция дыхания / И. С. Бреслав, В. Д. Глебовский. – Ленинград. – 1981. – 280 с.
8. Буянов, В. М. Экспериментальная модель острого гнойного перитонита / В. М. Буянов, Г. В. Родоман, Г. Г. Белоус // Хирургия. – 1997. – №1. – С. 72-73.
9. Влияние синтетического глюкокортикоидного гормона дексаметазона на сердечно-сосудистую систему анестезированной крысы / В. Г. Александров, Т. Н. Кокурина и др. // Ульяновский медико-биологический журнал. – 2018. – №4. – С. 91–98.
10. Волков, В. Е. Шок. Сепсис. Полиорганная дисфункция / В. Е. Волков, С. В. Волков. – Чебоксары. ПБОЮЛ. – 2009. – 348 с.
11. Галкин, А. А. Нейтрофилы и синдром системного воспалительного ответа. Раны и раневые инфекции / А. А. Галкин, В. С. Демидова // Журнал имени проф. Б. М. Костючёнка. – 2015. – Т. 2. – №2. – С. 25–31.
12. Гельфанд, Б. Р. Интенсивная терапия. Национальное руководство в 2х томах. / Б. Р. Гельфанд, А.И. Салтанов. – М.: ГЭОТАР – Медиа. – 2009. – 960 с.
13. Гомазков, О. А. Нейротрофические факторы мозга. Справочно-информационное издание. Электронная версия / О. А. Гомазков – М. – 2004. – 311 с.



14. Дегтярев, В. П. Нормальная физиология // ред. В. П. Дегтярева, С. М. Будылиной. – М.: Медицина. – 2006. – 736 с.
15. Дунаев, П. Д. Свойства и роль фактора некроза опухолей альфа в патогенезе ВИЧ-инфекции / П. Д. Дунаев, С. В. Бойчук, И. Г. Мустафин // Казанский медицинский журнал. – 2012. – Т. 93. – №2. – С. 9-20.
16. Дыхательный центр и регуляция его деятельности супрабульбарными структурами: монография / Н. А. Меркулова, А. Н. Инюшкин и др. // Самара: Самарский университет. – 2007. – 170 с.
17. Егиазарян, М. И. Сравнение диагностической информативности современных классификаций сепсиса / М. И. Егиазарян, Г. Р. Акопян, Л. А. Мусеян // Вестник интенсивной терапии. – 2011. – №2. – С. 7-12.
18. Козлов, В. К. Цитокиноterapia: патогенетическая направленность при инфекционных заболеваниях и клиническая эффективность: руководство для врачей / В. К. Козлов // ГОУВПО С.-Петерб. гос. мед. акад. им. И.И. Мечникова [и др.]. – Санкт-Петербург: Альтер Эго. – 2012. – 148 с.
19. Меркурьев, В. А. Механизмы модулирующего влияния интерлейкина-1 бета на механорецепторный контур регуляции дыхания: автореф. дис. ... кандидата био. наук: 03.03.01 / В. А. Меркурьев. – СПб, 2020. – 24 с.
20. Механизмы модуляции рефлекторного контроля дыхания при повышении системного уровня провоспалительного цитокина интерлейкина-1 $\beta$  / Н. П. Александрова, В. А. Меркурьев и др. // Росс. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2015. – Т. 101. – № 10. – С. 1158-1168.
21. Микробиология. Учебник. — 2-е изд., перераб. и доп. / А. В. Воробьев, А. С. Быков – М.: Медицина. – 2003. – 496 с.
22. Микробиом кишечника при стресс-индуцированных расстройствах: новый взгляд на синдром нейровоспаления / Е. О. Халтурина, Л. А. Клюева и др. // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2021. – Т. 12. – № 196. – С. 74-82.
23. Моделирование как подход к изучению хирургической патологии в условиях невесомости / Д. Н. Панченков, Д. А. Астахов и др. // Клиническая практика. – 2011. – Т. 2. – № 3. – С. 78-84.
24. Повышение системного уровня эндотоксина приводит к ослаблению нервного контроля кровообращения / Т. С. Туманова, Т. Н. Кокурина и др. // Российский физиологический журнал. – 2021. – Т. 107. – № 12. – С. 1518-1529.

25. Подвигина, Т. Т. Двойственные эффекты глюкокортикоидных гормонов на слизистую оболочку желудка / Т. Т. Подвигина, Л. П. Филаретова // Успехи физиологических наук. – 2014. – Т. 45. – №4. – С. 19–33.
26. Сафонов, В. А. Структура и функции дыхательного центра / В. А. Сафонов, А. А. Чумаченко, В. Н. Ефимов // Современные проблемы физиологии дыхания. Куйбышев.: Изд-во КГУ. – 1980. – С. 12-21.
27. Сравнение эффектов разных хемотипов липополисахаридов из *Escherichia Coli* и *Salmonella* на синтез TNF- $\alpha$  и IL-6 макрофаго-подобными клетками TNP-1 / Е. В. Волошина, С. В. Зубова и др. // Медицинская Иммунология. – 2009. – Т. 11. – №6. – С. 509-514.
28. Телетаева, Г. М. Цитокины и противоопухолевый иммунитет / Г. М. Телетаева // Практическая онкология. – 2007. – Т. 8. – № 4. – С. 211-218.
29. Ткаченко, Б. И. Нормальная физиология человека: учебник для высших учебных заведений / ред. Б. И. Ткаченко. – 2-е изд., испр. и доп. М.: ОАО «Издательство «Медицина». – 2005. – 928 с.
30. Туманова, Т. С. Влияние липополисахарида из клеток *Salmonella typhi* на кровообращение и дыхание анестезированной крысы / Т. С. Туманова, Е. А. Губаревич, В. Г. Александров // Ульяновский медико-биологический журнал. – 2020. – № 1. – С. 138-149.
31. Участие NO-эргических механизмов в реализации респираторных эффектов провоспалительного цитокина интерлейкина-1 $\beta$  / В. Г. Александров, Н. П. Александрова и др. // Российский физиол. журнал им. И. М. Сеченова. – 2015. – Т. 101. – № 12. – С. 1372 – 1384.
32. Уэст, Д. Физиология дыхания. Основы / ред. А. М. Генина. – М.: Мир. – 1988. – 198 с.
33. Хирургические болезни: учеб.: в 2 т. / ред. В.С. Савельева, А.И. Кириенко. – М.: ГЭОТАР-Медиа. – 2006. – №1. – 608 с.
34. Хыонг, Б. Т. Глутаматэргическая модуляция рефлекторных механизмов регуляции кардиореспираторной системы: автореф. дис. ... кандидата био. наук: 03.03.01 / Б. Т. Хыонг. – СПб, 2013. – 24 с.
35. Черешнев, В. А. Иммунологические и патофизиологические механизмы системного воспаления / В. А. Черешнев, Е. Ю. Гусев // Медицинская иммунология. – 2012. – Т. 14. – № 1-2. – С. 9-20.
36. Экспериментальные модели в патологии / В. А. Черешнев, М. И. Шилов и др. – Пермь: Изд-во ПГНИУ. – 2011. – 267 с.
37. Яковлев, М. Ю. Системная эндотоксинемия / М.Ю. Яковлев. – М.: Наука. – 2021. – 184 с.

38. A meta-analysis of heart rate variability and neuroimaging studies: implications for heart rate variability as a marker of stress and health / J. F. Thayer, F. Ahs et al // *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. – 2012. – V. 36. – №2. – P. 747–756.
39. A role for lymphocytes and cytokines on the eosinophil migration induced by LPS (In English) / H. C. Castro-Faria-Neto, C. M. Penido et al // *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. – 1997. – V. 92. – №2. – P. 197-200.
40. Accelerated lymphocyte death in sepsis occurs by both the death receptor and mitochondrial pathways / R. S. Hotchkiss, S. B. Osmon et al // *J Immunol*. – 2005. – V. 174. – №8. – P. 5110-5118.
41. Activation and regulation of systemic inflammation in ARDS: rationale for prolonged glucocorticoid therapy / G. U. Meduri, D. Annane et al // *Chest*. – 2009. – V. 136. – №6. – P. 1631-1643.
42. Acute binge drinking increases serum endotoxin and bacterial DNA levels in healthy individuals / S. Bala, M. Marcos et al // *PLoS One*. – 2014. – V. 9. – №5. – P. e96864.
43. Acute diclofenac treatment attenuates lipopolysaccharide-induced alterations to basic reward behavior and HPA axis activation in rats / R. De La Garza, G. M. Asnis et al // *Psychopharmacology (Berl)*. – 2005. – V. 179. – №2. – P. 356-365.
44. Acute endotoxemia-induced respiratory and intestinal dysbiosis / E. Goossens, J. Li et al // *Int J Mol Sci*. – 2022. – V. 23. – №19. – P. 11602.
45. Acute hydrocortisone administration reduces cardiovagal baroreflex sensitivity and heart rate variability in young men / A. M. Adlan, J. J. C. S. Veldhuijzen van Zanten et al // *J Physiol*. – 2018. – V. 596. – №20. – P. 4847-4861.
46. Alangari, A. A. Genomic and non-genomic actions of glucocorticoids in asthma / A. A. Alangari // *Ann Thorac Med*. – 2010. – V. 5. – №3. – P. 133–139.
47. Aleksandrov, V. G. Prefrontal control of respiration / V. G. Aleksandrov, T. G. Ivanova, N. P. Aleksandrova // *J. Physiol. Pharmacol*. – 2007. – V. 58. – №5. – P. 17-23.
48. Aleksandrova, N. P. Cyclooxygenase and nitric oxide synthase pathways mediate the respiratory effects of TNF- $\alpha$  in rats (In English) / N. P. Aleksandrova, A. A. Klinnikova, G. A. Danilova // *Respiratory Physiology and Neurobiology*. – 2021. – V. 284. – P. 103567.
49. Aleksandrova, N. P. Cyclooxygenase pathway in modulation of the ventilator response to hypercapnia by interleukin-1 $\beta$  / N. P. Aleksandrova, G. A. Danilova, V. G. Aleksandrov // *Resp. Physiol. Neurobiol*. – 2015. – V. 209. – P. 85-90.
50. Aleksandrova, N. P. Effects of Gamma-Aminobutyric Acid on the Hering–Breuer Inspiration-Inhibiting Reflex / N. P. Aleksandrova, V. G. Aleksandrov, T. G. Ivanova // *Neuroscience and Behavioral Physiology*. – 2010. – V. 40. – №2. – P. 165-171.

51. Alves-Filho, J. C. Neutrophil paralysis in sepsis / J. C. Alves-Filho, F. Spiller, F. Q. Cunha // *Shock*. – 2010. – V. 34. – №1. – P. 15–21.
52. An integrated cytokine and kynurenine network as the basis of neuroimmune communication / T. W. Stone, F. I. L. Clanchy et al // *Front Neurosci*. – 2022. – V. 16. – P. 1002004.
53. Andersson, U. Neural reflexes in inflammation and immunity / U. Andersson, K. J. Tracey // *The Journal of experimental medicine*. – 2012. – V. 209. – №6. – P. 1057–1068.
54. Animal models of sepsis and sepsis-induced kidney injury / K. Doi, A. Leelahavanichkul et al // *J Clin Invest*. – 2009. – V. 119. – №10. – P. 2868-2878.
55. Anisman, H. Cytokines, stress, and depressive illness / H. Anisman, Z. Merali // *Brain Behav Immun*. – 2002. – V. 16. – №5. – P. 513-524.
56. Arterial baroreflex function determines the survival time in lipopolysaccharide-induced shock in rats / F-M. Shen, Y-F. Guan et al // *Shock*. – 2004. – V. 21. – №6. – P. 556–560.
57. Assessment of Baroreflex Sensitivity Using Time-Frequency Analysis during Postural Change and Hypercapnia / A. Kazimierska, M. P. Placek et al // *Comput Math Methods Med*. – 2019. – V. 2019. – P. 4875231.
58. Autonomic functions of the prefrontal cortex / V. G. Aleksandrov, T. N. Kokurina et al // *Human Physiol*. – 2021. – V. 47. – №5. – P. 110-117.
59. Autonomic responses and efferent pathways from the insular cortex in the rat / Y. Yasui, C. D. Breder et al // *J Comp Neurol*. – 1991. – V. 303. – №3. – P. 355–374.
60. Averill, R. F. The design and development of the diagnosis related groups / R. F. Averill // *Top Health Rec Manage*. – 1984. – V. 4. – №3. – P. 66–76.
61. Azione dell'apelina e del recettore APJ sulla contrattilità miocardica e sul tono vasomotore [Activity of apelin and APJ receptors on myocardial contractility and vasomotor tone] / G. Losano, C. Penna et al // *Ital Heart J Suppl*. – 2005. – V. 6. – №5. – P. 272–278.
62. Bagaev V. Visceral-related area in the rat insular cortex / V. Bagaev, V. Aleksandrov // *Auton. Neurosci*. – 2006. – V. 125. – №1-2. – P. 16.
63. Baroreceptor denervation reduces inflammatory status but worsens cardiovascular collapse during systemic inflammation / M. R. Amorim, J. L. de Deus et al // *Sci Rep*. – 2020. – V. 10. – P. 6990.
64. Barrett, C. J. Problems, possibilities, and pitfalls in studying the arterial baroreflexes' influence over long-term control of blood pressure / C. J. Barrett, S. C. Malpas // *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. – 2005. – V. 288. – №4. – P. 837-845.

65. Bechtold, A. G. Glucocorticoids act in the dorsal hindbrain to baroreflex control of heart rate / Bechtold, A. G., Scheuer, D. A. // *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* – 2006. – V. 290. – №4. – P. 1003-1011.
66. Behbehani, M. M. Functional characteristics of the midbrain periaqueductal gray / M. M. Behbehani // *Prog Neurobiol.* – 1995. – V. 46. – №6. – P. 575-605.
67. Beishuizen, A. Endotoxin and the hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis / A. Beishuizen, L. G. Thijs // *J Endotoxin Res.* – 2003. – V. 9. – №1. – P. 3-24.
68. Belcher, E. H. Studies of plasma volume, red cell volume and total blood volume in young growing rats / E. H. Belcher, E. B. Harriss // *J Physiol.* – 1957. – V. 139. – №1. – P. 64-78.
69. Benarroch E. E. Primer on the autonomic nervous system // *Central Autonomic Control* / E. E. Benarroch // Academic Press. – 2012. – P. 9-12.
70. Benarroch, E. E. Control of the cardiovascular and respiratory systems during sleep / E. E. Benarroch // *Auton. Neurosci.* – 2019. – V. 218. – P. 54-63.
71. Benarroch, E. E. The central autonomic network: Functional organization, dysfunction, and perspective / E. E. Benarroch // *Mayo Clin. Proc.* – 1993. – V. 68. – №10. – P. 988-1001.
72. Bertani, B. Function and Biogenesis of Lipopolysaccharides / B. Bertani, N. Ruiz // *EcoSal Plus.* – 2018. – V. 8. – №1. – P. 1128.
73. Beyeler, S. A. Impact of inflammation on developing respiratory control networks: rhythm generation, chemoreception and plasticity / S. A. Beyeler, M. R. Hodges, A. G. Huxtable // *Respir Physiol Neurobiol.* – 2020. – V. 274. – P. 103357.
74. 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. – V. 75. – №1. – P. 1-45.
75. Blackshaw, L. A. Metabotropic glutamate receptors as novel therapeutic targets on visceral sensory pathways / L. A. Blackshaw, A. J. Page, R. L. Young // *Front Neurosci.* – 2011. – V. 24. – №5. – P. 40.
76. Blessing, W. W. Transneuronal transport of herpes simplex virus from the cervical vagus to brain neurons with axonal inputs to central vagal sensory nuclei in the rat / W. W. Blessing, Y. W. Li, S. L. Wesselingh // *Neuroscience.* – 1991. – V. 42. – №1. – P. 261-274.
77. Blood-brain barrier disruption by lipopolysaccharide and sepsis-associated encephalopathy / X. Peng, Z. Luo et al // *Front Cell Infect Microbiol.* – 2021. – V. 11. – P. 768108.
78. Bone, R. C. Toward an epidemiology and natural history of SIRS / R. C. Bone // *JAMA.* – 1992. – V. 268. – №33. – P. 3452–3455.

79. Bonham, A. C. Neurons 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. – V. 427. – P. 261-280.
80. Brain corticosteroid receptor balance in health and disease / E. R. De Kloet, E. Vreugdenhil et al // *Endocr Rev.* – 1998. – V. 19. – P. 269-301.
81. Brain distribution of cytokine mRNA induced by systemic administration of interleukin- $1\beta$  or tumor necrosis factor  $\alpha$  / L. Churchill, P. Taishi et al // *Brain Res.* – 2006. – V. 1120. – №1. – P. 64–73.
82. Brain-heart autonomic axis across different clinical status and severity of chronic obstructive pulmonary disease / V. Castelo-Simões, E. Z. Kabbach et al // *Respir Med.* – 2021. – V. 185. – P. 106511.
83. Brain-heart axis - Review Article / M. M. Manea, M. Comsa et al // *J Med Life.* – 2015. – V. 8. – №3. – P. 266–271.
84. Brain–heart axis and biomarkers of cardiac damage and dysfunction after stroke: a systematic review and meta-analysis / C. Xu, A. Zheng et al // *Int J Mol Sci.* – 2020. – V. 21. – №7. – P. 2347.
85. Brainstem circuits regulating gastric function / R. A. Travagli, G. E. Hermann et al // *Annu Rev Physiol.* – 2006. – V. 68. – P. 279–305.
86. Brainstem inflammation modulates the ventilatory pattern and its variability after acute lung injury in rodents / Y-H. Hsieh, D. G. Litvin et al // *J Physiol.* – 2020. – V. 598. – №13. – P. 2791-2811.
87. Branellec, D. TNF: antitumoral agent at the border lines of immunity and inflammation [Article in French] / D. Branellec, S. Chouaib // *Pathol Biol (Paris).* – 1991. – V. 39. – №3. – P. 230-239.
88. Brown, K. A. Neutrophils as potential therapeutic targets in sepsis / K. A. Brown, D. F. Treacher // *Discov Med.* – 2006. – V. 6. – №33. – P. 118-122.
89. Buitrago-Ricaurte N. Heart rate variability as an autonomic biomarker in ischemic stroke / N. Buitrago-Ricaurte, F. Cintra, G.S. Silva // *Arq. Neuro-Psiquiatr.* – 2020. – V. 78. – №11. – P. 724-732.
90. Burford, N. G. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis modulation of glucocorticoids in the cardiovascular system / N. G. Burford, N. A. Webster, D. Cruz-Topete // *Int J Mol Sci.* – 2017. – V. 18. – №10. – P. 2150.
91. Calvano, S. E. Experimental Human Endotoxemia: A Model of the Systemic Inflammatory Response Syndrome? / S. E. Calvano, S. M. Coyle // *Surg Infect (Larchmt).* – 2012. – V. 13. – №5. – P. 293–299.

92. Cardiorespiratory Alterations in a Newborn Ovine Model of Systemic Inflammation Induced by Lipopolysaccharide Injection / S. Nault, V. Creuze et al // *Front Physiol.* – 2020. – V. 11. – P. 585.
93. Cardiorespiratory control and cytokine profile in response to heat stress, hypoxia, and lipopolysaccharide (LPS) exposure during early neonatal period / F. B. McDonald, K. Chandrasekharan et al // *Physiol Rep.* – 2016. – V. 4. – №2. – P. e12688.
94. Caspase-1-inhibitor ac-YVAD-cmk reduces LPS-lethality in rats without affecting haematology or cytokine responses / G. Mathiak, G. Grass et al // *British Journal of Pharmacology.* – 2000. – V. 131. – №3. – P. 383–386.
95. Cechetto, D. F. Cortical control of the autonomic nervous system / D. F. Cechetto // *Exp Physiol.* – 2014. – V. 99. – №2. – P. 326-331.
96. Cechetto, D. F. Evidence for a viscerotopic sensory representation in the cortex and thalamus in the rat / D. F. Cechetto, C. B. Saper // *J. Comp. Neurol.* – 1987. – V. 262. – №1. – P. 27.
97. Cechetto, D. F. Subcortical sites mediating sympathetic responses from insular cortex in rats / D. F. Cechetto, S. J. Chen // *Am J Physiol.* – 1990. – V. 258. – №2. – P. 245-255.
98. Central Administration of Angiotensin-(1-7) Improves Vasopressin Impairment and Hypotensive Response in Experimental Endotoxemia / P. Passaglia, F. de Lima Faim et al // *Cells.* – 2021. – V. 10. – №1. – P. 105.
99. Central afferents to the nucleus of the solitary tract in rats and mice / S. Gasparini, J. M. Howland et al // *J Comp Neurol.* – 2020. – V. 528. – №16. – P. 2708-2728.
100. Central chemoreceptors and neural mechanisms of cardiorespiratory control / T. S. Moreira, A. C. Takakura et al // *Brazilian Journal of Medical and Biological Research.* – 2011. – V. 44. – №9. – P. 883–889.
101. Central pathways of pulmonary and lower airway vagal afferents / L. Kubin, G. F. Alheid et al // *J Appl Physiol.* – 2006. – V. 101. – №2. – P. 618–627.
102. Changes in lung surfactant proteins in rats with lipopolysaccharide-induced fever / M. Kolomaznik, I. Zila et al // *Physiol Res.* – 2014. – V. 63. – №4. – P. S619-28.
103. Characterization of chemokines and their receptors in the central nervous system: physiopathological implications / A. Bajetto, R. Bonavia et al // *J Neurochem.* – 2002. – V. 82. – №6. – P. 1311-1329.
104. Choi, H. S. Bovin colostrum prevents bacterial translocation in an intestinal ischemia/reperfusion injured rat model / H.S. Choi et al. // *Journal of medicinal food.* – 2009. – V. 12. – №1. – P. 34-46.

105. Chronic low-dose infusions of dexamethasone in rats: effects on blood pressure, body weight and plasma atrial natriuretic peptide / G. Tonolo, R. Fraser et al // *J Hypertens.* – 1988. – V. 6. – №1. – P. 25–31.
106. Cinel I. Molecular biology of inflammation and sepsis: A primer / I. Cinel, S.M. Opal // *Critical Care Medicine.* – 2009. – V. 37. – №1. – P. 291–304.
107. Cobalt microinjections into the infralimbic cortex of the anesthetized rat suppresses circulatory and respiratory reactions to the electrical microstimulation of the lateral orbital cortex / E. A. Gubarevich, T. N. Kokurina et al // *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology.* – 2024. – V. 60. – №1. – P. 380–390.
108. Cognitive dysfunction after heart disease: a manifestation of the heart-brain axis / C. Xu, X. Tao et al // *Oxid Med Cell Longev.* – 2021. – V. 2021. – P. 4899688.
109. Comparison of the effects of substance P and substance K on blood pressure, salivation and urinary bladder motility in urethane-anaesthetized rats / C. A. Maggi, S. Giuliani et al // *Eur J Pharmacol.* – 1985. – V. 113. – №2. – P. 291–294.
110. Computational profiling of the gut-brain axis: microflora dysbiosis insights to neurological disorders / N. Dovrolis, G. Kolios et al // *Brief Bioinform.* – 2019. – V. 20. – №3. – P. 825-841.
111. Cortical control of Hering-Breuer reflexes in anesthetized rats / V. G. Aleksandrov, V. A. Mercuriev et al // *Eur. J. Med. Res.* – 2009. – V. 14. – №4. – P. 1.
112. Corticosterone inhibits vagal afferent glutamate release in the nucleus of the solitary tract via retrograde endocannabinoid signaling / F. J. Ragozzino, R. A. Arnold et al // *Am J Physiol Cell Physiol.* – 2020. – V. 319. – №6. – P. C1097-C1106.
113. Corticosterone levels in the brain show a distinct ultradian rhythm but a delayed response to forced swim stress / S. K. Droste, L. de Groote et al // *Endocrinology.* – 2008. – V. 149. – P. 3244-3253.
114. Cortisol rapidly increases baroreflex sensitivity of heart rate control, but does not affect cardiac modulation of startle / A. Schulz, S. Richter et al // *Physiol Behav.* – 2020. – V. 215. – P. 112792.
115. Crosstalk between brain, lung and heart in critical care / S. Mrozek, J. Gobin et al // *Anaesth Crit Care Pain Med.* – 2020. – V. 39. – №4. – P. 519-530.
116. Cytokine mRNA induction by interleukin-1beta or tumor necrosis factor alpha in vitro and in vivo / P. Taishi, L. Churchill et al // *Brain Res.* – 2008. – V. 1226. – P. 89–98.
117. Cytokine signals propagate through the brain / L. Vitkovic, J. P. Konsman et al // *Mol Psychiatry.* – 2000. – V. 5. – №6. – P. 604–615.
118. Dahiya, P. Burns as a model of SIRS / P. Dahiya // *Front bioscience (Landmark Ed).* – 2009. – V. 14. – P. 4962-4967.



119. Dampney, R. A. Central neural control of the cardiovascular system: current perspectives / R. A. Dampney // *Adv Physiol Educ.* – 2016. – V. 40. – №3. – P. 283-296.
120. Dayanithi, G., Antoni, F. A. Rapid as well as delayed inhibitory effects of glucocorticoid hormones on pituitary adrenocorticotrophic hormone release are mediated by type II glucocorticoid receptors and require newly synthesized messenger ribonucleic acid as well as protein / G. Dayanithi, F. A. Antoni // *Endocrinology.* – 1989. – V. 125. – №1. – P. 308-313.
121. De Kloet, E. R. Glucocorticoid feedback paradox: a homage to Mary Dallman / E. R. De Kloet // *Stress.* – 2023. – V. 26. – №1. – P. 2247090.
122. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis / R. C. Bone, R. A. Balk et al // The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest.* – 1992. – V. 101. – №6. – P. 1644–1655.
123. Derbenev, A. V. Dexamethasone rapidly increases GABA release in the dorsal motor nucleus of the vagus via retrograde messenger-mediated enhancement of TRPV1 activity / A. V. Derbenev, B. N. Smith // *PLoS One.* – 2013. – V. 8. – №7. – P. e70505.
124. Dexamethasone hypertension in rats: role of prostaglandins and pressor sensitivity to norepinephrine / M. Handa, K. Kondo et al // *Hypertension.* – 1984. – V. 2. – №1. – P. 236-41.
125. Dexamethasone induces rapid promotion of norepinephrine mediated vascular smooth muscle cell contraction / T. Zhang, W. L. Shi et al // *Mol Med Rep.* – 2013. – V. 7. – №2. – P. 549–554.
126. Dicks, L. M. T. Gut Bacteria and Neurotransmitters / L. M. T. Dicks // *Microorganisms.* – 2022. – V. 10. – №9. – P. 1838.
127. Direct parabrachial–cortical connectivity / F. Grady, L. Peltekian et al // *Cereb Cortex.* – 2020. – V. 30. – №9. – P. 4811-4833.
128. Donina, Zh. A. A Comparative assessment of effects of major mediators of acute phase response (IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-6) on breathing pattern and survival rate in rats with acute progressive hypoxia / Zh. A. Donina, E. V. Baranova, N. P. Aleksandrova // *J Evol Biochem Physiol.* – 2021. – V. 57. – №4. – P. 936-944.
129. Dose equivalency evaluation of major corticosteroids: pharmacokinetics and cell trafficking and cortisol dynamics / D. E. Mager, S. X. Lin et al // *J Clin Pharmacol.* – 2003. – V. 43. – №11. – P. 1216–1227.
130. Early gestation dexamethasone alters baroreflex and vascular responses in newborn lambs before hypertension / J. L. Segar, R. D. Roghair et al // *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* – 2006. – V. 291. – №2. – P. 481-488.

131. Effect of bacterial lipopolysaccharides on sulfated glycosaminoglycan metabolism and prostaglandin E2 synthesis in equine cartilage explant cultures / M. H. MacDonald, S. M. Stover et al // *Am J Vet Res.* – 1994. – V. 55. – №8. – P. 1127-1138.
132. Effect of gram-negative endotoxin on levels of serum corticosterone, TNF alpha, circulating blood cells, and the survival of rats (In English) / G. Feuerstein, J. M. Hallenbeck et al // *Circulatory Shock.* – 1990. – V. 30. – №3. – P. 265-278.
133. Effect of steroid hormones on blood pressure / M. Dodic, E. M. Wintour et al // *Clin Exp Pharmacol Physiol.* – 1999. – V. 26. – №7. – P. 550-552.
134. Effects of ketamine and propofol on the ratio of interleukin-6 to interleukin-10 during endotoxemia in rats / T. Taniguchi, H. Kanakura et al // *Tohoku J Exp Med.* – 2003. – V. 200. – №2. – P. 85-92.
135. Effects of middle cerebral artery occlusion on baroreceptor reflex control of heart rate in the rat / M. A. Saad, F. Huerta et al // *J Auton Nerv Syst.* – 1989. – V. 27. – №2. – P. 165-172.
136. Elevated presepsin is associated with perioperative major adverse cardiovascular and cerebrovascular complications in elevated-risk patients undergoing noncardiac surgery: the leukocytes and cardiovascular perioperative events study / J. Handke, A. S. Scholz et al // *Anesth Analg.* – 2019. – V. 128. – №6. – P. 1344-1353.
137. Endocrine physiology and pathophysiology / C. Tsigos, I. Kyrou et al // In: *Endotext* [Internet]. – South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc. – 2020.
138. Endothelial Dysfunction and Neutrophil Degranulation as Central Events in Sepsis Physiopathology / M. Martín-Fernández, A. Tamayo-Velasco et al // *Int J Mol Sci.* – 2021. – V. 22. – №12. – P. 6272.
139. Endothelial NOS (NOS3) impairs myocardial function in developing sepsis / A. M. Van de Sandt, R. Windler et al // *Basic Res Cardiol.* – 2013. – V. 108. – №2. – P.330.
140. Endothelial Responses in Sepsis / J. Joffre, J. Hellman et al // *American journal of respiratory and critical care medicine.* – 2020. – V. 202. – №3. – P. 361-370.
141. Ericsson, A. A functional anatomical analysis of central pathways subserving the effects of interleukin-1 on stress-related neuroendocrine neurons / A. Ericsson, K. J. Kovacs, P. E Sawchenko // *J Neurosci.* – 1994. – V. 14. – №2. – P. 897-913.
142. Experimental human endotoxemia as a model of systemic inflammation / D. Van Lier, C. Geven et al // *Biochimie.* – 2019. – V. 159. – P. 99–106.
143. Experimental models of sepsis and their clinical relevance / L. F. Poli-de-Figueiredo, A. G. Garrido et al // *Shock.* – 2008. – V. 30. – №1. – P. 53-59.

144. Facilitation by the renin-angiotensin system of cyclosporine-evoked hypertension in rats: Role of arterial baroreflexes and vasoreactivity / S. A. Nasser, R. Sabra et al // *Life Sci.* – 2016. – V. 163. – P. 1-10.
145. Faraj, T. A. Host defenses against metabolic endotoxaemia and their impact on lipopolysaccharide detection / T. A. Faraj, C. L. McLaughlin, C. Erridge // *Int Rev Immunol.* – 2017. – V. 36. – №3. – P. 125-144.
146. Felger, J. C. Imaging the role of inflammation in mood and anxiety-related disorders / J. C. Felger // *Current neuropharmacology.* – 2018. – V. 16. – №5. – P. 533-558.
147. Fisk, G. D. Descending projections of infralimbic cortex that mediate stimulation-evoked changes in arterial pressure / G. D. Fisk, J. M. Wyss // *Brain Res.* – 2000. – V. 859. – №1. – P. 83-95.
148. Foster, S. J. Tumour necrosis factor alpha production by rat blood and its ex vivo pharmacological modulation / S. J. Foster, L. M. McCormick // *Agents Actions.* – 1993. – V. 39. – P. C61-3.
149. French-Mullen, J. M. Cortisol inhibition of calcium currents in guinea pig hippocampal CA1 neurons via G-protein-coupled activation of protein kinase C / J. M. French-Mullen // *J Neurosci.* – 1995. – V. 15. – №2. – P. 903-911.
150. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain / R. Dantzer, J. C. O'Connor et al // *Nat Rev Neurosci.* – 2008. – V. 9. – №1. – P. 46-56.
151. Functional organization of brain pathways subserving the baroreceptor reflex: studies in conscious animals using immediate early gene expression / R. A. Dampney, J. W. Polson et al // *Cell Mol Neurobiol.* – 2003. – V. 23. – №4-5. – P. 597-616.
152. GABAergic pump cells of solitary tract nucleus innervate retrotrapezoid nucleus chemoreceptors / A. C. Takakura, T. S. Moreira et al // *J Neurophysiol.* – 2007. – V. 98. – №1. – P. 374–381.
153. Gayle, D. Feeding status and bacterial LPS-induced cytokine and neuropeptide gene expression in hypothalamus / D. Gayle, S. E. Ilyin, C. R. Plata-Salamán // *Am J Physiol.* – 1999. – V. 277. – №4. – P. R1188-95.
154. Generation of spontaneous respiratory rhythm in high spinal cats / M. Aoki, S. Mori et al // *Brain Res.* – 1980. – V. 202. – №1. – P. 51-63.
155. Glucocorticoid receptors in the prefrontal cortex regulate stress-evoked dopamine efflux and aspects of executive function / K. A. Butts, J. Weinberg et al // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2011. – V. 108. – №45. – P. 18459-64.

156. Glucocorticoid Therapy and Adrenal Suppression / N. C. Nicolaides, A. N. Pavlaki et al // Endotext [Internet]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279156/>. South Dartmouth (MA): MDText.com. Inc. – 2000.
157. Glucocorticoids act in the dorsal hindbrain to increase arterial pressure / D. A. Scheuer, A. G. Bechtold et al // *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. – 2004. – V. 286. – №1. – P. H458-H467.
158. Glucocorticoids and COVID-19 / S. Bruscoli, P. G. Puzzovio et al // *Pharmacol Res*. – 2022. – V. 185. – P. 106511.
159. Guo, H. Inflammasome assays in vitro and in mouse models / H. Guo, J. P-Y. Ting // *Curr Protoc Immunol*. – 2020. – V. 131. – №1. – P. e107.
160. Haigh, R. M. Effect of glucocorticoids on  $\alpha$ -adrenergic receptor binding in rat vascular smooth muscle / R. M. Haigh, C. T. Jones // *J Molecular Endocrinology*. – 1990. – V. 5. – P. 41-48.
161. Hansen, M. K. Subdiaphragmatic vagotomy blocks the sleep- and fever-promoting effects of interleukin-1 beta / M. K. Hansen, J. M. Krueger // *Am. J. Physiol*. – 1997. – V. 273. – P. R1246–R1253.
162. Hardy, S. G. Brainstem mediation of prefrontal stimulus-produced hypotension / S. G. Hardy, S. M. Mack // *Exp Brain Res*. – 1990. – V. 79. – №2. – P. 393-399.
163. Hardy, S. G. Prefrontal stimulus-produced hypotension in rat / S. G. Hardy, D. E. Holmes // *Exp Brain Res*. – 1988. – V. 73. – №2. – P. 249-255.
164. Hassan, S. F. Respiratory, metabolic and cardiac functions are altered by disinhibition of subregions of the medial prefrontal cortex / S. F. Hassan, J. L. Cornish, A. K. Goodchild // *J Physiol*. – 2013. – V. 591. – №23. – P. 6069-6088.
165. Hay, M. Metabotropic glutamate receptor inhibition of visceral afferent potassium currents / M. Hay, K. A. Lindsley // *Brain Res*. – 1995. – V. 698. – №1-2. – P. 169-174.
166. Hayashi, F. Respiratory neurons mediating the Breuer-Hering reflex prolongation of expiration in rat / F. Hayashi, S. K. Coles, D. R. McCrimmon // *The Journal of Neuroscience*. – 1996. – V. 16. – №20. – P. 6526-6536.
167. Hazeldine, J. The impact of trauma on neutrophil function / J. Hazeldine, P. Hampson, J. M. Lord // *Injury*. – 2014. – V. 45. – №12. – P. 1824-1833.
168. Heart rate variability and inflammatory response in rats with lipopolysaccharide-induced endotoxemia / I. Zila, D. Mokra et al // *Physiol Res*. – 2015. – V. 64. – №5. – P. S669-76.
169. Hering-Breuer reflexes in high-altitude infants / J. Mortola, T. Trippenbach et al // *Clinical Science*. – 1995. – V. 88. – P. 345-350.
170. Human endotoxemia as a model of systemic inflammation / A. S. Andreasen, K. S. Krabbe et al // *Curr Med Chem*. – 2008. – V. 15. – №17. – P. 1697-705.

171. Human metabolic response to systemic inflammation: assessment of the concordance between experimental endotoxemia and clinical cases of sepsis/SIRS / K. Kamisoglu, B. Haimovich et al // *Crit Care*. – 2015. – V. 19. – №1. – P. 71.
172. Identification of gastric related neurons in the rat insular cortex / V. G. Aleksandrov, V. A. Bagaev et al // *Neurosci Lett*. – 1996. – V. 216. – №1. – P. 5-8.
173. IL-1 beta depresses respiration and anoxic survival via a prostaglandin-dependent pathway in neonatal rats / A. Olsson, G. Kayhan et al // *Pediatr Res*. – 2003. – V. 54. – №3. – P. 326-331.
174. Immune modulation of the pulmonary hypertensive response to bacterial lipopolysaccharide (endotoxin) in broilers / R. F. Wideman, M. E. Chapman et al // *Poult Sci*. – 2004. – V. 83. – №4. – P. 624–637.
175. Impaired hypothalamic regulation of sympathetic outflow in primary hypertension / J-J. Zhou, H-J. Ma et al // *Neurosci Bull*. – 2019. – V. 35. – №1. – P. 124–132.
176. Increased lipopolysaccharide-induced hypothermia in neurogenic hypertension is caused by reduced hypothalamic PGE 2 production and increased heat loss / M. R. Amorim, D. A. Moreira et al // *J Physiol*. – 2020. – V. 598. – №20. – P. 4663-4680.
177. Influence of a high-fat diet on gut microbiota, intestinal permeability and metabolic endotoxaemia / A. P. Moreira, T. F. Teixeira et al // *Br J Nutr*. – 2012. – V. 108. – №5. – P. 801-809.
178. Influence of pre-existing hypertension on neuroendocrine and cardiovascular changes evoked by chronic stress in female rats / J. O. Vieira, J. O. Duarte et al // *Psychoneuroendocrinology*. – 2018. – V. 97. – P. 111-119.
179. Infusion of Escherichia coli lipopolysaccharide toxin in rats produces an early and severe impairment of baroreflex function in absence of blood pressure changes / A. Radaelli, P. Castiglioni et al // *Shock*. – 2013. – V. 39. – №2. – P. 204-209.
180. Insular cortex alpha1-adrenoceptors modulate the parasympathetic component of the baroreflex in unanesthetized rats / F. H. Alves, C. C. Crestani et al // *Brain Res*. – 2009. – V. 1295. – P. 119–126.
181. Interaction brain-lungs [Article in French] / L. Abdennour, C. Zeghal et al // *Ann Fr Anesth Reanim*. – 2012. – V. 31. – №6. – P. e101-107.
182. Interleukin-6 activates arginine vasopressin neurons in the supraoptic nucleus during immune challenge in rats. *American journal of physiology* / K. Palin, M. L. Moreau et al // *Endocrinology and metabolism*. – 2009. – V. 296. – №6. – P. E1289–E1299.
183. Intrinsic functional connectivity of periaqueductal gray subregions in humans / M.-A. Coulombe, N. Erpelding et al // *Hum Brain Mapp*. – 2016. – V. 37. – №4. – P. 1514–1530.

184. Intrinsic functional connectivity of the periaqueductal gray, a resting fMRI study / J. Kong, P. Tu et al // *Behav Brain Res.* – 2010. – V. 211. – №2. – P. 215–219.
185. Involvement of tumor necrosis factor- $\alpha$  in angiotensin II-mediated effects on salt appetite, hypertension, and cardiac hypertrophy / S. Sriramula, M. Haque et al // *Hypertension.* – 2008. – V. 51. – №5. – P. 1345–1351.
186. Kaempferol alleviates LPS-induced neuroinflammation and BBB dysfunction in mice via inhibiting HMGB1 release and down-regulating TLR4/MyD88 pathway / X. Cheng, Y-L. Yang et al // *Int Immunopharmacol.* – 2018. – V. 56. – P. 29-35.
187. Kanatsou, S. Brain mineralocorticoid receptors and resilience to stress / S. Kanatsou, M. Joels, H. Krugers // *Vitam Horm.* – 2019. – V. 109. – P. 341-359.
188. Kapp, B. S. The organization of insular cortex projections to the amygdaloid central nucleus and autonomic regulatory nuclei of the dorsal medulla / B. S. Kapp, J. S. Schwaber, P. A. Driscoll // *Brain Res.* – 1985. – V. 360. – №1-2. – P. 355-360.
189. Kaur, D. Activation of microglia and astrocytes: a roadway to neuroinflammation and Alzheimer's disease / D. Kaur, V. Sharma, R. Deshmukh // *Inflammopharmacology.* – 2019. – V. 27. – №4. – P. 663–677.
190. Kazerani, H. R. Comparison of urethane/chloralose and pentobarbitone anaesthesia for examining effects of bacterial lipopolysaccharide in mice / H. R. Kazerani, B. L. Furman // *Fundamental & Clinical Pharmacology.* – 2006. – V. 20. – №4. – P. 379–384.
191. Kimmerly, D. S. A review of human neuroimaging investigations involved with central autonomic regulation of baroreflex-mediated cardiovascular control / D. S. Kimmerly // *Auton Neurosci.* – 2017. – V. 207. – P. 10-21.
192. Koganezawa, T. The role of the RVLM neurons in the viscerosympathetic reflex: a mini review / T. Koganezawa, Y. Shimomura, N. Terui // *Auton Neurosci.* – 2008. – V. 142. – №1-2. – P. 17-9.
193. Laaris N. PGE2 Depresses solitary tract-mediated synaptic transmission in the NTS / N. Laaris, D. Weinreich // *Neuroscience.* – 2007. – V. 146, №2. – P. 792–801.
194. Lactoferrin moderates LPS-induced hypotensive response and gut injury in rats / M. F. Doursout, H. Horton et al // *Int Immunopharmacol.* – 2013. – V. 15. – №2. – P. 227-31.
195. Lamotte, G. Stress and central autonomic network / G. Lamotte, K. Shouman, E. E. Benarroch // *Auton. Neurosci.* – 2021. – V. 235. – P. 102870.
196. LBP and CD14 secreted in tears by the lacrimal glands modulate the LPS response of corneal epithelial cells / D. R. Blais, S. G. Vascotto et al // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 2005. – V. 46. – №11. – P. 4235-4244.

197. Learning to breathe: habituation of Hering–Breuer–49. inflation reflex emerges with postnatal brainstem maturation / M. Dutschmann, T. G. Bautista et al // *Respir Physiol Neurobiol.* – 2014. – V. 195. – P. 44.
198. Left ventricular impaired relaxation and interstitial myocarditis identified in sepsis-associated cardiac dysfunction: use of a rodent model / D. J. Sturgess, S. Morrison et al // *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research.* – 2021. – V. 27. – P. e929512.
199. Leistner, C. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis and stress / C. Leistner, A. Menke // *Handb Clin Neurol.* – 2020. – V. 175. – P. 55-64.
200. Lerman, Y. V. Neutrophil Migration under normal and sepsis conditions / Y. V. Lerman, M. Kim // *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets.* – 2015. – V. 15. – №1. – P. 19–28.
201. Li, H. Fracture initiates systemic inflammatory response syndrome through recruiting polymorphonuclear leukocytes / H. Li // *Immunological research.* – 2016. – V. 64. – №4. – P. 1053-1059.
202. Lindsey, B. G. Computational Models and Emergent Properties of Respiratory Neural Networks / B. G. Lindsey, I. A. Rybak, J. C. Smith // *Compr Physiol.* – 2012. – V. 2. – №3. – P. 1619–1670.
203. Lipopolysaccharide-binding protein-mediated Toll-like receptor 4 dimerization enables rapid signal transduction against lipopolysaccharide stimulation on membrane-associated CD14-expressing cells / H. Tsukamoto, K. Fukudome et al // *Int Immunol.* – 2010. – V. 22. – №4. – P. 271–280.
204. Lipopolysaccharides from different bacterial sources elicit disparate cytokine responses in whole blood assays / G. Mathiak, K. Kabir et al // *Int J Mol Med.* – 2003. – V. 11. – №1. – P. 41-44.
205. Locksley, R. M. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology / R. M. Locksley, N. Killeen, M. J. Lenardo // *Cell.* – 2001. – V. 104. – P. 487–501.
206. Long, S. The neuronal determinants of respiratory rhythm / S. Long, J. Duffin // *Prog Neurobiol.* – 1986. – V. 27. – №2. – P. 101–182.
207. Low-dose dexamethasone alleviates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in rats and upregulates pulmonary glucocorticoid receptors / X-Q. Wang, X. Zhou et al // *Respirology.* – 2008. – V. 13. – №6. – P. 772–780.
208. Low-grade inflammation, diet composition and health: current research evidence and its translation / A. M. Minihane, S. Vinoy et al // *Br J Nutr.* – 2015. – V. 114. – №7. – P. 999–1012.
209. Low-tidal-volume prevent ventilation induced inflammation in a mouse model of sepsis / O. Boehm, M. Rohner et al // *Life Sci.* – 2020. – V. 240. – P. 117081.

210. LPS-induced blood neutrophilia is inhibited by alpha 1-adrenoceptor antagonists: a role for catecholamines / S. P. Altenburg, M. A. Martins et al // *The journal of leukocyte biology*. – 1997. – V. 61. – №6. – P. 689-694.
211. LPS-induced cytokine production in human monocytes and macrophages / M. Rossol, H. Heine et al // *Crit Rev Immunol*. – 2011. – V. 31. – №5. – P. 379-446.
212. Lu, Q. Y. Preparation of rat model of systemic inflammatory response syndrome induced by zymosan / Q. Y. Lu // *Zhejiang da xue xue bao yi xue ban*. – 2011. – V. 40. – №6. – P. 641-646.
213. Lung-brain axis / O. Bajinka, L. Simbilyabo et al // *Crit Rev Microbiol*. – 2021. – V. 48. – №3. – P. 257-269.
214. Macedo, F. N. NOX-dependent reactive oxygen species production underlies arrhythmias susceptibility in dexamethasone-treated rats / F. N. Macedo, D. S. Souza // *Free Radic Biol Med*. – 2020. – V. 152. – P. 1-7.
215. Majewska, M. D. Glucocorticoids are modulators of GABAA receptors in brain / M. D. Majewska, J. C. Bissler, R. L. Eskay // *Brain Res*. – 1985. – V. 339. – №1. – P. 178-182.
216. Makara, G. B. Non-genomic effects of glucocorticoids in the neural system. Evidence, mechanisms and implications / G. B. Makara, J. Haller // *Prog Neurobiol*. – 2001. – V. 65. – №4. – P. 367-390.
217. Maldonado, R. F. Lipopolysaccharide modification in Gram-negative bacteria during chronic infection / R. F. Maldonado, I. Sá-Correia, M. A. Valvano // *FEMS Microbiol Rev*. – 2016. – V. 40. – №4. – P. 480-493.
218. Mancina, G. The autonomic nervous system and hypertension / G. Mancina, G. Grassi // *Circ Res*. – 2014. – V. 114. – №11. – P. 1804–1814.
219. Mandel, D. A. Glutamatergic inputs to the CVLM independent of the NTS promote tonic inhibition of sympathetic vasomotor tone in rats / D. A. Mandel, A. M. Schreihofler // *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. – 2008. – V. 295. – №4. – P. H1772- H1779.
220. Mapping and computer assisted morphometry and microdensitometry of glucocorticoid receptor immunoreactive neurons and glial cells in the rat central nervous system / A. Cintra, M. Zoli et al // *Neuroscience*. – 1994. – V. 62. – P. 843-897.
221. Marik, P. E. SIRS, qSOFA and new sepsis definition / P. E. Marik, A. M. Taeb // *Journal of thoracic disease*. – 2017. – V. 9. – №4. – P. 943–945.
222. Marketon, L. I. W. The Glucocorticoid Receptor: A Revisited Target for Toxins / L. I. W. Marketon, E. M. Sternberg // *Toxins (Basel)*. – 2010. – V. 2. – №6. – P. 1357–1380.



223. Marty, V. Dual modulation of synaptic transmission in the nucleus tractus solitarius by prostaglandin E2 synthesized downstream of IL-1beta / V. Marty, M. El Hachmane, T. Amédée // *Eur J Neurosci.* – 2008. – V. 27. – №12. – P. 3132–3150.
224. Mazgaeen, L. Recent Advances in Lipopolysaccharide Recognition Systems / L. Mazgaeen, P. Gurung // *Int J Mol Sci.* – 2020. – V. 21. – №2. – P. 379.
225. Medications associated with fracture risk in patients with rheumatoid arthritis / G. Ozen, S. Pedro et al // *Ann Rheum Dis.* – 2019. – V. 78. – №8. – P. 1041-1047.
226. Mehaffey, E. Tumor necrosis factor- $\alpha$ , kidney function, and hypertension / E. Mehaffey, D. S. Majid // *Am J Physiol Renal Physiol.* – 2017. – V. 313. – №4. – P. F1005–F1008.
227. Metabolic endotoxemia with obesity: is it real and is it relevant? / N. E. Boutagy, R. P. McMillan et al // *Biochimie.* – 2016. – V. 124. – P. 11-20.
228. Mice with an increased glucocorticoid receptor gene dosage show enhanced resistance to stress and endotoxic shock / H. M. Reichardt, T. Umland et al // *Mol Cell Biol.* – 2000. – V. 20. – №23. – P. 9009-9017.
229. Micro- and macrocirculatory changes during sepsis and septic shock in a rat model / T. Hua, X. Wu et al // *Shock.* – 2018. – V. 49. – №5. – P. 591-595.
230. Microbiology / N. Parker, M. Schneegurt et al // *OpenStax.* – 2017. – V. 1. –P. 1301.
231. Microelectrostimulation of the rat lateral orbital cortex causes specific reactions of the circulation and respiration / T.N. Kokurina, E.A. Gubarevich et al // *J. Evol. Biochem. Physiol.* – 2022. – V. 58. – №11. – P. 2101–2108.
232. MicroRNA-30a-3p overexpression improves sepsis-induced cell apoptosis in vitro and in vivo via the PTEN/PI3K/AKT signaling pathway / S. Yang, Y. Wang et al // *Exp Ther Med.* – 2018. – V. 15. – №2. – P. 2081-2087.
233. Mineralocorticoid and glucocorticoid receptor balance in control of HPA axis and behaviour / A. P. Harris, M. C. Holmes et al // *Psychoneuroendocrinology.* – 2013. – V. 38. – №5. – P. 648-658.
234. Mineralocorticoid receptors are indispensable for nongenomic modulation of hippocampal glutamate transmission by corticosterone / H. Karst, S. Berger et al // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2005. – V. 102. – №52. – P. 19204-19207.
235. Mitochondrial dysfunction mediated through dynamin-related protein 1 (Drp1) propagates impairment in blood brain barrier in septic encephalopathy / B. Haileselassie, A. U. Joshi et al // *J Neuroinflammation.* – 2020. – V. 17. – №1. – P. 36.
236. Mohammad, S. Role of Metabolic Endotoxemia in Systemic Inflammation and Potential Interventions / S. Mohammad, C. Thiernemann // *Frontiers in immunology.* – 2021. – V. 11. – P. 594150.

237. Molecular dynamics of lipopolysaccharide-induced lung injury in rodents / H. Domscheit, M. A. Hegeman et al // *Front Physiol.* – 2020. – V. 11. – P. 36.
238. Multiplex cytokine profiling in patients with sepsis / S. Mera, D. Tatulescu et al // *APMIS: acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica.* – 2011. – V. 119. – №2. – P. 155–163.
239. N-acetylcysteine abrogates acute lung injury induced by endotoxin / S. J. Kao, D. Wang et al // *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology.* – 2006. – V. 33. – №1–2. – P. 33–40.
240. Nagai, M. The insular cortex and cardiovascular system: a new insight into the brain-heart axis / M. Nagai, S. Hoshida, K. Kario // *J Am Soc Hypertens.* – 2010. – V. 4. – №4. – P. 174-182.
241. Neafsey, E. J. The topographical organization of neurons in the rat medial frontal, insular and olfactory cortex projecting to the solitary nucleus, olfactory bulb, periaqueductal gray and superior colliculus / E. J. Neafsey, K. M. Hurley-Gius, D. Arvanitis // *Brain Res.* – 1986. – V. 377. – № 2. – P. 261-270.
242. Neff, R. A. Stimulation of NTS activates and non-NMDA receptors in rat cardiac vagal neurons in the nucleus ambiguus / R. A. Neff, M. Mihalevich, D. Mendelowitz // *Brain Res.* – 1998. – V. 792. – №2. – P. 277-282.
243. Neural and humoral pathways of communication from the immune system to the brain: parallel or convergent? / R. Dantzer, J. P. Konsman et al // *Auton Neurosci.* – 2000. – V. 85. – №1-3. – P. 60-65.
244. Neural regulation of the stress response: glucocorticoid feedback mechanisms / J. P. Herman, J. M. McKlveen et al // *Braz J Med Biol Res.* – 2012. – V. 45. – №4. – P. 292-298.
245. Neurochemistry of the Kölliker-Fuse nucleus from a respiratory perspective / A. G. Varga, S. N. Maletz et al // *J Neurochem.* – 2021. – V. 156. – №1. – P. 16–37.
246. Neuroinflammation in the NTS is associated with changes in cardiovascular reflexes during systemic inflammation / M. R. Amorim, J. L. de Deus et al // *J Neuroinflammation.* – 2019. – V. 16. – P. 125.
247. NG-methyl-L-arginine inhibits tumor necrosis factor-induced hypotension: implications for the involvement of nitric oxide / R. G. Kilbourn, S. S. Gross et al // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 1990. – V. 87. – №9. – P. 3629-3632.
248. Nicotine impairs reflex renal nerve and respiratory activity in deoxycorticosterone acetate-salt rats / S. A. Whitescarver, A. M. Roberts et al // *Hypertension.* – 1991. – V. 17. – №2. – P. 179–186.
249. Nitric oxide in the insular cortex modulates baroreflex responses in a cGMP-independent pathway / N. C. Ferreira-Junior, C. C. Crestani et al // *Brain Res.* – 2020. – V. 1747. – P. 147037.

250. NO production by cNOS and iNOS reflects blood pressure changes in LPS-challenged mice / M. M. Hallemeesch, B. J. Janssen et al // *Am J Physiol Endocrinol and Metabolism*. – 2003. – V. 285. – №4. – P. E871–E875.
251. Non-genomic effects of glucocorticoids: an updated view / R. A. Panettieri, D. Schaafsma et al // *Trends Pharmacol Sci*. – 2019. – V. 40. – №1. – P. 38-49.
252. Nucleus tractus solitarius mediates hyperalgesia induced by chronic pancreatitis in rats / Y. Bai, Y-B. Chen et al // *World J Gastroenterol*. – 2019. – V. 25. – №40. – P. 6077–6093.
253. Obesity and gut-microbiota-brain axis: a narrative review / A. Asadi, M. N. Shadab et al // *J Clin Lab Anal*. – 2022. – V. 36. – №5. – P. e24420.
254. Oppenheimer, S. The Insular Cortex and the Regulation of Cardiac Function / S. Oppenheimer, D. Cechetto // *Compr Physiol*. – 2016. – V. 6. – №2. – P. 1081-133.
255. Orai2 channel regulates prostaglandin E2 production in TNF $\alpha$ /IL1 $\alpha$ -stimulated astrocytes / H. Nakajima, S. Fujita et al // *Glia*. – 2022. – V. 70. – №9. – P. 1666-1680.
256. Owens, N. C. Regional haemodynamic responses to activation of the medial prefrontal cortex depressor region / N. C. Owens, A. J. Verberne // *Brain Res*. – 2001. – V. 919. – №2. – P. 221–231.
257. Oyola, M. G. Hypothalamic–pituitary–adrenal and hypothalamic–pituitary–gonadal axes: sex differences in regulation of stress responsivity / M. G. Oyola, R. J. Handa // *Stress*. – 2017. – V. 20. – №5. – P. 476–494.
258. Palmiter, R. D. The Parabrachial Nucleus: CGRP Neurons Function as a General Alarm / R. D. Palmiter // *Trends Neurosci*. – 2018. – V. 41. – №5. – P. 280-293.
259. Paxinos, G. The rat brain in stereotaxic coordinates / G. Paxinos, C. Watson // San Diego, CA: San Diego Academic Press. – 1998.
260. Pharmacokinetics of recombinant human tumor necrosis factor-alpha in rats. Effects of size and number of doses and nephrectomy / B. L. Ferraiolo, J. McCabe et al // *Drug Metab Dispos*. – 1989. – V. 17. – №4. – P. 369-372.
261. Pharmacokinetics, pharmacodynamics, and comparative bioavailability of single, oral 2-mg doses of dexamethasone liquid and tablet formulations: a randomized, controlled, crossover study in healthy adult volunteers / C. Queckenberg, B. Wachall et al // *Clin Ther*. – 2011. – V. 33. – P. 1831–1841.
262. Plasma catecholamine levels and vascular response in deoxycorticosterone acetate hypertension of rats / W. Rascher, R. Dietz et al // *Clin Sci (Lond)*. – 1980. – V. 59. – №6. – P. 315s-317s.

263. Postconditioning of the lower limb-protection against the reperfusion syndrome / E. Gyurkovich, P. Aranyi et al // *The journal of the surgical research.* – 2011. – V. 169. – №1. – P. 139-147.
264. Potential targets to mitigate trauma- or sepsis-induced immune suppression / C. B. Bergmann, N. Beckmann et al // *Front Immunol.* – 2021. – V. 12. – P. 622601.
265. PreBötzing complex neurons drive respiratory modulation of blood pressure and heart rate / C. Menuet, A. A. Connelly et al // *eLife.* – 2020. – V. 9. – P. e57288.
266. Pre-Bötzing complex: a brainstem region that may generate respiratory rhythm in mammals / J. C. Smith, H. H. Ellenberger et al // *Science.* – 1991. – V. 254. – №5032. – P. 726-729.
267. Predicting Cortisol Exposure from Paediatric Hydrocortisone Formulation Using a Semi-Mechanistic Pharmacokinetic Model Established in Healthy Adults / J. Melin, Z. P. Parra-Guillen et al // *Clin Pharmacokinet.* – 2018. – V. 57. – P. 515-527.
268. Prefrontal cortex in the rat: projections to subcortical, motor, and limbic centers / P. L. A. Gabbot, T. A. Warner et al // *J. Comp. Neurol.* – 2005. – V. 492. – №2. – P. 145.
269. Probert, L. TNF and its receptors in the CNS: The essential, the desirable and the deleterious effects / L. Probert // *Neuroscience.* – 2015. – V. 302. – P. 2-22.
270. Propofol increases morbidity and mortality in a rat model of sepsis / M. Schläpfer, T. Piegeler et al // *Crit Care (London England).* – 2015. – V. 19. – №1. – P. 45.
271. Prostaglandin D2 and endothelin-1 induce the production of prostaglandin F2 alpha, 9 alpha, 11 beta-prostaglandin F2, prostaglandin E2, and thromboxane in capillary endothelium of human brain / M. Spatz, D. Stanimirovic et al // *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* – 1993. – V. 49. – №4. – P. 789–793.
272. Qadri, F. Centrally produced neuronal nitric oxide in the control of baroreceptor reflex sensitivity and blood pressure in normotensive and spontaneously hypertensive rats / F. Qadri, O. A. Carretero, A. G. Scicli // *Jpn J Pharmacol.* – 1999. – V. 81. – №3. – P. 279-285.
273. Quantity of alcohol drinking positively correlates with serum levels of endotoxin and markers of monocyte activation / S. Liangpunsakul, E. Toh, R. A. Ross et al // *Sci Rep.* – 2017. – V. 7. – P. 4462.
274. Raetz, C. R. H. Lipopolysaccharide endotoxins / C. R. H. Raetz, C. Whitfield // *Annu Rev Biochem.* – 2002. – V. 71. – P. 635–700.
275. Ramachandran, G. Gram-positive and gram-negative bacterial toxins in sepsis / G. Ramachandran // *Virulence.* – 2014. – V. 5. – №1. – P. 213–218.

276. Ramseyer, V. D. Tumor necrosis factor- $\alpha$ : regulation of renal function and blood pressure / V. D. Ramseyer, J. L. Garvin // *Am J Physiol Renal Physiol.* – 2013. – V. 304. – №10. – P. F1231–F1242.
277. Rapid effects of aldosterone on clonal human vascular smooth muscle cells / R. Gros, Q. Ding et al // *Am J Physiol Cell Physiol.* – 2007. – V. 292. – №2. – P. C788-C794.
278. Rapid effects of corticosterone in the mouse dentate gyrus via a nongenomic pathway / N. Pasricha, M. Joëls et al // *J Neuroendocrinol.* – 2011. – V. 23. – №2. – P. 143-147.
279. Rapid glucocorticoid-mediated endocannabinoid release and opposing regulation of glutamate and gamma-aminobutyric acid inputs to hypothalamic magnocellular neurons / S. Di, R. Malcher-Lopes et al // *Endocrinology.* – 2005. – V. 146. – №10. – P. 4292-4301.
280. Recognizing the role of the vagus nerve in depression from microbiota-gut brain axis / C. Tan, Q. Yan et al // *Front Neurol.* – 2022. – V. 13. – P. 1015175.
281. Regulatory effects of cervical sympathetic trunk and renal sympathetic nerve activities on cerebral blood flow during headdown postural rotations / N. Matsuo, S. Matsuo et al // *Autonom Neurosci: Basic and Clin.* – 2020. – V. 229. – P. 102738.
282. Respiratory disturbances and high risk of sudden death in the neonatal connexin-36 knockout mouse / L. F. Pérez-Atencio, A. M. Casarrubios et al // *Physiol Rep.* – 2021. – V. 9. – №21. – P. e15109.
283. Respiratory modulation of premotor cardiac vagal neurons in the brainstem / O. Dergacheva, K. J. Griffioen et al // *Respir Physiol Neurobiol.* – 2010. – V. 174. – №1-2. – P. 102-110.
284. Revand, R. Ipsilateral somatic nerves mediate histamine-induced vasosensory reflex responses involving perivascular afferents in rat models / R. Revand, S. K. Singh // *Scient Rep.* – 2021. – V. 11. – №1. – P. 14648.
285. Rezq, S. Rostral ventrolateral medulla EP3 receptor mediates the sympathoexcitatory and pressor effects of prostaglandin E2 in conscious rats / S. Rezq, A. A. Abdel-Rahman // *J Pharmacol Exp Ther.* – 2016. – V. 359. – №2. – P. 290-299.
286. Robertson D. Afferent baroreflex failure / D. Robertson, A. Diedrich, M. Chapleau // *Auton Neurosci.* – 2012. – V. 172. – №1-2. – P. 1–3.
287. Roelfsema V. The metabolic effects of endotoxin are differentially affected by the pattern of GH administration in the rat / V. Roelfsema, G. B. Thomas, H. Lin, // *Journal of Endocrinology.* – 2001. – V. 171. – №1. – P. 173–181.
288. Role of NADPHox/Rho-kinase signaling in the cyclosporine-NSAIDs interactions on blood pressure and baroreflexes in female rats / H. M.El-Gowelli, K. S. Ibrahim et al // *Life Sci.* – 2017. – V. 185. – P. 15-22.

289. Role of prefrontal cortex glucocorticoid receptors in stress and emotion / J. M. McKlveen, B. Myers et al // *Biol Psychiatry*. – 2013. – V. 74. – №9. – P. 672-679.
290. Role of several mediators of inflammation on the mouse hypothalamo-pituitary-adrenal axis response during acute endotoxemia / R. Hadid, E. Spinedi et al // *Neuroimmunomodulation*. – 1999. – V. 6. – №5. – P. 336-343.
291. Roy, H. A. Green, A. L. The Central Autonomic Network and Regulation of Bladder Function / H. A. Roy, A. L. Green // *Front Neurosci*. – 2019. – V. 13. – P. 535.
292. Rudiger A. Cellular processes in sepsis / A. Rudiger, M. Stotz, M. Singer // *Swiss Medical Weekly*. – 2008. – V. 138. – №43-44. – P. 629-634.
293. Rudiger, A. Beta-block the septic heart / A. Rudiger // *Crit Care Med*. – 2010. – V. 38. – №10. – P. S608-S612.
294. Russo, D. Increased sensitivity to noradrenaline in glucocorticoid-treated rats: the effects of indomethacin and desipramine / D. Russo, R. Fraser, C. J. Kenyon // *J Hypertens*. – 1990. – V. 8. – №9. – P. 827-33.
295. Saleh, T. M. Role of the insular cortex in the modulation of baroreflex sensitivity / T. M. Saleh, B. J. Connell // *Am J Physiol*. – 1998. – V. 274. – №5. – P. 1417-1424.
296. Saper, C. B. Convergence of autonomic and limbic connections in the insular of the rat / C. B. Saper // *J Comp Neurol*. – 1982. – V. 210. – №2. – P. 163-173.
297. Satb2 neurons in the parabrachial nucleus mediate taste perception / B. C. Jarvie, J. Y. Chen et al // *Nat Commun*. – 2021. – V. 12. – P. 224.
298. Scherholz M. L. Chronopharmacology of Glucocorticoids / M. L. Scherholz, N. Schlesinger, I. P. Androulakisa // *Adv Drug Deliv Rev*. – 2019. – V. 151-152. – P. 245-261.
299. Scheuer, D. A. Glucocorticoids modulate baroreflex control of heart rate in conscious normotensive rats / D. A. Scheuer, A. G. Bechtold // *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. – 2002. – V. 282. – №2. – P. R475- R483.
300. Scheuer, D. A. Regulation of the stress response in rats by central actions of glucocorticoids / D. A. Scheuer // *Exp Physiol*. – 2010. – V. 95. – №1. – P. 26-31.
301. Sedger, L. M. TNF and TNF-receptors: From mediators of cell death and inflammation to therapeutic giants – past, present and future / L. M. Sedger, M. F. McDermottc // *Cytokine & Growth Factor Reviews*. – 2014. – V. 25. – №4. – P. 453-472.
302. Segar, J. L. Glucocorticoid modulation of cardiovascular and autonomic function in preterm lambs: role of ANG II / J. L. Segar, K. A. Bedell, O. J. Smith // *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. – 2001. – V. 280. – №3. – P. 646-654.
303. Seifert, E. Effects of baclofen on the Hering-Breuer inspiratory-inhibitory and deflation reflexes in rats / E. Seifert, T. Trippenbach // *Am J Physiol*. – 1998. – V. 274. – №2. – P. R462-9.

304. Selective denervation of the aortic and carotid baroreceptors in rats / J. A. Castania, P. L. Katayama et al // *Exp Physiol.* – 2019. – V. 104. – №9. – P. 1335-1342.
305. Sepsis and septic shock / R. S. Hotchkiss, L. L. Moldawer et al // *Nat Rev Dis Primers.* – 2016. – V. 2. – P. 16045.
306. Sepsis progression to multiple organ dysfunction in carotid chemo/baro-denervated rats treated with lipopolysaccharide / G. Nardocci, A. Martin et al // *J Neuroimmunol.* – 2015. – V. 278. – P. 44-52.
307. Sepsis-induced apoptosis causes progressive profound depletion of B and CD4+ T lymphocytes in humans / R. S. Hotchkiss, K. W. Tinsley et al // *J Immunol.* – 2001. – V. 166. – №11. – P. 6952-6953.
308. Sevoflurane attenuates systemic inflammation compared with propofol, but does not modulate neuro-inflammation: a laboratory rat study / B. Beck-Schimmer, L. Baumann et al // *European Journal of Anaesthesiology.* – 2017. – V. 34. – №11. – P. 764–775.
309. Shankar-Hari M. Developing new clinical criteria and assessing for septic shock. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3) / M. Shankar-Hari, G. Phillips, M. Levy // *JAMA.* – 2016. – V. 315. – №8. – P. 775–787.
310. Shipley, M. T. Insular cortex projection to the nucleus of the solitary tract and brainstem visceromotor regions in the mouse / M. T. Shipley // *Brain Res Bull.* – 1982. – V. 8. – №2 – P. 139–148.
311. Shoemaker, J. K. Forebrain neurocircuitry associated with human reflex cardiovascular control / J. K. Shoemaker, R. Goswami // *Front Physiol.* – 2015. – V. 6. – P. 240.
312. Short A. Effects of a new C5a-receptor antagonist on C5a- and endotoxin-induced neutropenia in the rat / A. Short, A. K. Wong, A. M. Finch // *British Journal of Pharmacology.* – 1999. – V. 126. – №3. – P. 551–554.
313. Short-term exposure to dexamethasone promotes autonomic imbalance to the heart before hypertension / F. Duchatsch, P. B. Constantino et al // *J Am Soc Hypertens.* – 2018. – V. 12. – №8. – P. 605-613.
314. Silicon dioxide nanoparticles induced neurobehavioral impairments by disrupting microbiota–gut–brain axis / J. Diao, Y. Xia et al // *J Nanobiotechnology.* – 2021. – V. 19. – P. 174.
315. Simulation of the systemic inflammatory response syndrome in anesthetized rats / V. G. Aleksandrov, E. A. Gubarevich et al // *Integrat Physiol.* – 2020. – V. 1. – №1. – P. 51–60.
316. Simvastatin inhibits lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor-alpha expression in neonatal rat cardiomyocytes: the role of reactive oxygen species / F. Shang, L. Zhao et al // *Biochem Biophys Res Commun.* – 2006. – V. 351. – №4. – P. 947-52.

317. Singer M. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3) / M. Singer, C. Deutschman, C. Seymour // *JAMA*. – 2016. – V. 315. – №8. – P. 801–810.
318. Sklerov M. Functional neuroimaging of the central autonomic network: recent developments and clinical implications / M. Sklerov, E. Dayan, N. Browner // *Clin Auton Res*. – 2019. – V. 29. – №6. – P. 555–566.
319. Smith, S. M. The role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in neuroendocrine responses to stress / S. M. Smith, W. M. Vale // *Dialogues Clin Neurosci*. – 2006. – V. 8. – №4. – P. 383–395.
320. Stahl, O. Mimicry of human sepsis in a rat model-prospects and limitations / O. Stahl, B. Löffler // *J Surg Res*. – 2013. – V. 179. – №1. – P. e167–e175.
321. Steven, S. Time response of oxidative/nitrosative stress and inflammation in LPS-induced endotoxemia – a comparative study of mice and rats / S. Steven, M. Dib, S. Roohani // *International journal of molecular sciences*. – 2017. – V. 18. – №10. – P. 2176.
322. Stevens, R. D. The brain-lung-brain axis / R. D. Stevens, L. Puybasset // *Intensive Care Med*. – 2011. – V. 37. – №7. – P. 1054–1056.
323. Stress and corticosterone increase the readily releasable pool of glutamate vesicles in synaptic terminals of prefrontal and frontal cortex / G. Treccani, L. Musazzi et al // *Mol Psychiatry*. – 2014. – V. 19. – №4. – P. 433–443.
324. Structural-Functional Properties of Identified Excitatory and Inhibitory Interneurons within Pre-Bötzing Complex Respiratory Microcircuits / H. Koizumi, N. Koshiya et al // *J Neurosci*. – 2013. – V. 33. – №7. – P. 2994–3009.
325. Su, D. F. Arterial baroreflex function in conscious rats / D. F. Su, C. Y. Miao // *Acta Pharmacol Sin*. – 2002. – V. 23. – №8. – P. 673–679.
326. Sun, M. K. Medullospinal vasomotor neurones mediate hypotension from stimulation of prefrontal cortex / M. K. Sun // *J Auton Nerv Syst*. – 1992. – V. 38. – №3. – P. 209–217.
327. Sun, M-F. Dysbiosis of gut microbiota and microbial metabolites in Parkinson's Disease / M-F. Sun, Y-Q. Shen // *Ageing Res Rev*. – 2018. – V. 45. – P. 53–61.
328. Synaptic transmission in nucleus tractus solitarius is depressed by Group II and III but not Group I presynaptic metabotropic glutamate receptors in rats / C.Y. Chen, Eh. E.H. Ling et al // *J Physiol*. – 2002. – V. 538. – №3. – P. 773–786.
329. Tahsili-Fahadan, P. Heart-brain axis: effects of neurologic injury on cardiovascular function / P. Tahsili-Fahadan, R. G. Geocadin // *Circ Res*. – 2017. – V. 120. – №3. – P. 559–572.
330. Thayer, J. F. Claude Bernard and the heart–brain connection: Further elaboration of a model of neurovisceral integration / J. F. Thayer, R. D. Lane // *Neurosci Biobehav Rev*. – 2009. – V. 33. – №2. – P. 81–88.



331. The hierarchical basis of neurovisceral integration / R. Smith, J. F. Thayer et al // *Neurosci Biobehav Rev.* – 2017. – V. 75. – P. 274–296.
332. The impact of inflammation on respiratory plasticity / A. D. Hocker, J. A. Stokes et al // *Exp Neurol.* – 2017. – V. 287. – №2. – P. 243-253.
333. The induced prostaglandin E2 pathway is a key regulator of the respiratory response to infection and hypoxia in neonates / A. O. Hofstetter, S. Saha et al // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2007. – V. 104. – №23. – P. 9894-9899.
334. The influence of breathing on the central nervous system / B. Bordoni, S. Purgol et al // *Cureus.* – 2018. – V. 10. – №6. – P. e2724.
335. The organization of projections from the cortex, amygdala, and hypothalamus to the nucleus of the solitary tract in rat / D. Van der Kooy, L. Y. Koda et al // *The Journal of Comparative Neurology.* – 1984. – V. 224. – №1. – P. 1–24.
336. The parabrachial nucleus directly channels spinal nociceptive signals to the intralaminar thalamic nuclei, but not the amygdala / J. Deng, H. Zhou et al // *Neuron.* – 2020. – V. 107. – №5. – P. 909-923.
337. The possible role of the vagal nervous system in the recovery of the blood pressure control after cardiac arrest: a porcine model study / M. Lavanga, G. Baselli, F. Fumagalli et al // *Physiol Meas.* – 2017. – V. 38 – №1. – P. 63-76.
338. The role of glucocorticoids in inflammatory diseases / S.D. Reichardt, A. Amouret et al // *Cells.* – 2021. – V. 10. – №11. – P. 2921.
339. The role of neutrophils in severe sepsis / J. C. Alves-Filho, A. de Freitas et al // *Shock.* – 2008. – V. 30. – №1. – P. 3–9.
340. Thrasher, T. N. Arterial baroreceptor input contributes to long-term control of blood pressure / T. N. Thrasher // *Curr Hypertens Rep.* – 2006. – V. 8. – №3. – P. 249–254.
341. Time versus frequency domain techniques for assessing baroreflex sensitivity / P. B. Persson, M. Di Rienzo et al // *Journal of Hypertension.* – 2001. – V. 19. – №10. – P. 1699–1705.
342. Timmermans, S. A general introduction to glucocorticoid biology / S. Timmermans, J. Souffriau, C. Libert // *Front. in Immunol.* – 2019. – V. 20. – P. 1545.
343. Torrealba, F. Glutamate immunoreactivity of insular cortex afferents to the nucleus tractus solitarius in the rat: a quantitative electron microscopic study / F. Torrealba, C. Müller // *Neuroscience.* – 1996. – V. 71. – №1. – P. 77–87.
344. Tortora, G.J., Derrickson, B. Principles of anatomy and physiology. 2009. – V. 15. – P. 1281.

345. Transneuronal labeling of neurons in rabbit brain after injection of herpes simplex virus type 1 into the aortic depressor nerve / Z. J. Gieroba, Y. W. Li et al // *Brain Res.* – 1991. – V. 558. – №2. – P. 264-272.
346. Trippenbach, T. Baclofen-induced block of the Hering - Breuer expiratory-promoting reflex in rats / T. Trippenbach // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* – 1995. – V. 73. – P. 706–713.
347. Tseng, C-J. Primer on the autonomic nervous system / C-J. Tseng, P-W. Cheng, C-S. Tung // *Pharmacology of the Nucleous Tractus Solitarii.* – 2012. – V. 1. – №1. – P. 141–144.
348. Tumor necrosis factor alpha deficiency improves endothelial function and cardiovascular injury in deoxycorticosterone acetate. Salt-hypertensive mice / R. Cai, Y. Hao et al // *Biomed Res Int.* – 2020. – V. 2020. – №2. – P. 3921074.
349. Tumor necrosis factor stimulates interleukin-1 and prostaglandin E2 production in resting macrophages / P. R. Bachwich, S. W. Chensue et al // *Biochem Biophys Res Commun.* – 1986. – V. 136. – №1. – P. 94–101.
350. Tumour necrosis factor signalling in health and disease / J. Holbrook, S. Lara-Reyna et al // *F1000Res.* – 2019. – V. 8. – F1000 Faculty Rev-111.
351. Ulrich-Lai, Y. M. Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses / Y. M. Ulrich-Lai, J. P. Herman // *Nat Rev Neurosci.* – 2009. – V. 10. – №6. – P. 397–409.
352. Ulrich-Lai, Y. M. Sympatho-adrenal activity and hypothalamic-pituitary-adrenal axis regulation / Y. M. Ulrich-Lai, W. C. Engeland // *Handbook of Stress and the Brain.* Elsevier. – 2005. – V. 1. – №1. – P. 419–435.
353. Understanding the heart-brain axis response in COVID-19 patients: A suggestive perspective for therapeutic development / V. Lionetti, S. Bollini et al // *Pharmacol Res.* – 2021. – V. 168. – P. 105581.
354. Vagotomy attenuates tumor necrosis factor-alpha-induced sleep and EEG delta-activity in rats / T. Kubota, J. Fang, Z. Guan et al // *Am. J. Physiol.: Regul., Integr. Comp. Physiol.* – 2001. – V. 280. – P. R1213–R1220.
355. Vandewalle, J. Glucocorticoids in sepsis: to be or not to be / J. Vandewalle, C. Libert // *Front Immunol.* – 2020. – V. 11. – P. 1318.
356. Vasopressin, Central Autonomic Control and Blood Pressure Regulation / M. Lozić, O. Šarenac et al // *Current Hypertension Reports.* – 2018. – V. 20. – №2. – P. 11.
357. Venero, C. Rapid glucocorticoid effects on excitatory amino acid levels in the hippocampus: a microdialysis study in freely moving rats / C. Venero, J. Borrell // *Eur J Neurosci.* – 1999. – V. 11. – №7. – P. 2465–2473.

358. Verberne, A. J. M. Modulation of autonomic function by the cerebral cortex / Central regulation of autonomic functions / A. J. M. Verberne // Oxford: Oxford University Press. – 2011. – V. 1. – №1. – P. 202.
359. Verberne, A. J. Medullary sympathoexcitatory neurons are inhibited by activation of the medial prefrontal cortex in the rat / A. J. Verberne // *Am J Physiol.* – 1996. – V. 270. – №4Pt2. – P. R713-R719.
360. Wagner, J. G. Neutrophil migration during endotoxemia / J. G. Wagner, R. A. Roth // *Journal of Leukocyte Biology.* – 1999. – V. 66. – №1. – P. 10–24.
361. Wang, L. L. Receptor-independent activation of GABAergic neurotransmission and receptor-dependent nontranscriptional activation of phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase Akt pathway in short-term cardiovascular actions of dexamethasone at the nucleus tractus solitarius of the rat / L. L. Wang, C. C. Ou, J. Y. Chan // *Mol Pharmacol.* – 2005. – V. 67. – №2. – P. 489–498.
362. Wang, X. Lipopolysaccharide: Biosynthetic pathway and structure modification / X. Wang, P. J. Quinn // *Prog Lipid Res.* – 2010. – V. 49. – №2. – P. 97–107.
363. Wehrwein, E. A. Regulation of blood pressure by the arterial baroreflex and autonomic nervous system / E. A. Wehrwein, M. J. Joyner // *Handb Clin Neurol.* – 2013. – V. 117. – P. 89–102.
364. Witzernath, M. The lung–brain axis in ventilator-induced brain injury: enter IL-6 / M. Witzernath, W. M. Kuebler // *Am J Respir Cell Mol Biol.* – 2021. – V. 65. – №4. – P. 339–340.
365. Wong, K. A. Plasmodium infection and endotoxic shock induce the expansion of regulatory dendritic cells / K. A. Wong, A. Rodriguez // *The Journal of Immunology.* – 2008. – V. 180. – №2. – P. 716–726.
366. Wong, M. L. Localization of interleukin 1 type I receptor mRNA in rat brain / M. L. Wong, J. Licinio // *Neuroimmunomodulation.* – 1994. – V. 1. – №2. – P. 110.
367. Yang, S. Glucocorticoids and vascular reactivity / S. Yang, L. Zhang // *Curr Vasc Pharmacol.* – 2004. – V. 2. – №1. – P. 1-12.
368. Zanotti-Cavazzoni, S. L. Cardiac dysfunction in severe sepsis and septic shock / S. L. Zanotti-Cavazzoni, S. M. Hollenberg // *Curr Opin Crit Care.* – 2009. – V. 15. – №5. – P. 392–397.
369. Žera, T. Centrally administered TNF increases arterial blood pressure independently of nitric oxide synthase / T. Žera, A. Nowiński, P. Kwiatkowski // *Neuropeptides.* – 2016. – V. 58. – P. 67-72.
370. Zhang, Z. H. Insular cortex lesions alter baroreceptor sensitivity in the urethane-anesthetized rat / Z. H. Zhang, S. Rashba, S. M. Oppenheimer // *Brain Res.* – 1998. – V. 813. – №1. – P. 73–81.