

## ВЛИЯНИЕ ФНО- $\alpha$ , ИЛ-2, ИЛ-5, ИЛ-6 НА СОКРАЩЕНИЯ МЫШЦ ТРАХЕИ И БРОНХОВ КРЫСЫ

© 2021 г. Л. Е. Блажевич<sup>1, \*</sup>, О. Е. Смирнова<sup>1</sup>, В. М. Кирилина<sup>1</sup>, А. И. Кривченко<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия

<sup>2</sup>Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,  
Санкт-Петербург, Россия

\*E-mail: lyu15041988@yandex.ru

Поступила в редакцию 06.04.2021 г.

После доработки 11.05.2021 г.

Принята к публикации 11.05.2021 г.

В статье рассмотрена роль ФНО- $\alpha$ , ИЛ-2, ИЛ-5, ИЛ-6 в сократительной активности гладкой мускулатуры трахеи и бронхов крысы. Исследования проводились на изолированных препаратах с применением электрической стимуляции постганглионарных нервов (частота – 30 стим./с, длительность – 0.5 мс, амплитуда – 20 В, продолжительность стимуляции – 10 с). Были сформированы две группы животных: контрольная (получала внутрибрюшинную инъекцию физиологического раствора) и экспериментальная с сенсibilизацией овальбумином (получала внутрибрюшинную инъекцию овальбумина с его повторным введением через 14 дней). Далее проводилась оценка сокращения мышцы трахеи и бронхов после повторного введения овальбумина и после перфузии растворами интерлейкинов. В результате исследования выяснено, что ФНО- $\alpha$ , ИЛ-2, ИЛ-5, ИЛ-6 приводят к выраженному увеличению сократительных ответов гладкой мышцы трахеи и бронхов как в контрольной группе, так и в группе животных, сенсibilизированных овальбумином. Наибольшее констрикторное влияние на мышцу среди исследованных цитокинов принадлежит ФНО- $\alpha$  и ИЛ-6.

*Ключевые слова:* цитокины, сенсibilизация овальбумином, гладкая мускулатура трахеи и бронхов

DOI: 10.31857/S0869813921080021

В данной статье рассматривается влияние ФНО- $\alpha$ , ИЛ-2, ИЛ-5, ИЛ-6 на сокращение мышцы трахеи и бронхов крыс. Выбор этих интерлейкинов обусловлен их большим значением в патогенезе бронхиальной астмы.

### *Фактор некроза опухоли- $\alpha$ (ФНО- $\alpha$ )*

ФНО- $\alpha$  – провоспалительный цитокин, который высвобождается из различных типов клеток в дыхательных путях человека и животных (тучные клетки, макрофаги) через иммуноглобулинзависимый механизм [1]. ФНО- $\alpha$  активирует по крайней мере два рецептора клеточной поверхности – TNFR1 и TNFR2, которые экспрессируются в большинстве типов клеток [2].

ФНО- $\alpha$  продуцируется в значительных количествах в дыхательных путях при астме. Этот интерлейкин был обнаружен в бронхоальвеолярном лаваже, конденсате выдыхаемого воздуха и мокроте больных астмой во время естественного или вызванного приступа [3]. ФНО- $\alpha$  может участвовать в развитии гиперчувствительности

бронхов, непосредственно изменяя сократительные свойства гладкой мускулатуры дыхательных путей. Основные механизмы неизвестны, но предполагается, что большинство биологических эффектов ФНО- $\alpha$  на гладкую мышцу респираторного тракта опосредуются рецептором этого фактора – TNFR1 [4].

Эффекты влияния ФНО- $\alpha$  на мышцу также связаны с возрастанием кальциевой чувствительности гладкомышечных клеток. В модели сенсibilизированных морских свинок ингибирование ФНО- $\alpha$  полностью устраняло развитие гиперчувствительности бронхов и воспаления дыхательных путей. Респираторные гладкомышечные клетки, подвергнутые действию ФНО- $\alpha$  *in vitro* или *in vivo*, становятся гиперчувствительными ко многим веществам констрикторного действия [5].

Недавно было показано, что кратковременное воздействие ФНО- $\alpha$  на мышцу в течение 30 мин усиливает сократительную реакцию на ацетилхолин за счет увеличения кальциевой чувствительности сократительных элементов в миоцитах трахеи крупного рогатого скота [4–6].

Secher показал, что гиперреактивность бронхов у мышей предотвращалась предварительной нейтрализацией ФНО- $\alpha$  специфическими антителами даже при условии воздействия на мышцу метахолином [7].

Вдыхание аэрозольного ФНО- $\alpha$  индуцировало гиперреактивность бронхов, сопровождающуюся воспалением дыхательных путей у здоровых людей [8], но лежащий в основе этого явления механизм полностью не изучен. Одной из видных патофизиологических особенностей воспалительной гиперреактивности бронхов является повышенная чувствительность сенсорных нервов дыхательных путей [9].

ФНО- $\alpha$  индуцирует мощный сенсibilизирующий эффект на дорсальный корневой ганглий и ноцицептивные нейроны тройничного ганглия, приводя к развитию длительной воспалительной боли в различных соматических тканях [10]. Этот гипералгезирующий эффект был опосредован действием на рецепторы к TNF – TNFR1 и TNFR2, расположенные на поверхности нервных клеток, что приводит к повышению чувствительности и экспрессии ваниллоидных рецепторов 1-го типа (TRPV1). Обильная экспрессия TRPV1 в нейрональной соме и сенсорных терминалях является надежным и заметным биомаркером повышения чувствительности С-волокон [11]. В иммуногистохимических исследованиях показано наличие обоих рецепторов (TNFR1 и TNFR2) на клеточной мембране блуждающих легочных сенсорных нейронов крыс. ФНО- $\alpha$  индуцирует отчетливое повышение чувствительности С-волокон и медленно-адаптирующихся волокон [12].

### *Интерлейкин-2 (ИЛ-2)*

ИЛ-2 вырабатывается тучными клетками, Т-хелперами, а также некоторыми другими клетками организма и принимает участие в воспалительных и аллергических реакциях. В генетическом исследовании, проведенном Christensen, показана связь между ИЛ-2 и IgE-опосредованной аллергией и астмой [13].

Синтез ИЛ-2, а также экспрессия генов, ответственных за формирование полипептидной цепи этого цитокина в лимфоцитах периферической крови повышается в состоянии астматического статуса. Park и Lee указывают на связь повышенного содержания ИЛ-2 и рецепторов к нему в бронхоальвеолярном лаваже со снижением показателя форсированной жизненной емкости легких, снижением показателя объема форсированного выдоха за 1 с и значения пиковой скорости выдоха. Концентрация ИЛ-2 в бронхоальвеолярном лаваже у пациентов с бронхиальной астмой выше, чем у здоровых людей [14]. Аналогичные данные были обнаружены Kanagalingam в недавнем исследовании, где автор указывает на связь уровня ИЛ-2 с тяжестью протекания бронхиальной астмы у человека [15].

Уровень растворимых рецепторов к ИЛ-2 в сыворотке крови значительно повышен у пациентов детского возраста с острой и хронической астмой по сравнению с контрольной группой и у взрослых пациентов с этими же заболеваниями [15]. Аналогичные результаты о повышенном содержании сывороточного растворимого рецептора ИЛ-2 при аллергической астме у детей получили в своих исследованиях Tang и Chen [16].

#### *Интерлейкин-5 (ИЛ-5)*

ИЛ-5 выполняет важную роль в регуляции воспаления при бронхиальной астме. ИЛ-5 принимает участие в формировании поздней фазы воспаления при астме, а также играет одну из ведущих ролей в антиген-индуцированной бронхиальной астме [17].

ИЛ-5 является цитокином, секретируемым Т-клетками, тучными клетками, эозинофилами, базофилами, эпителиальными клетками [18] и рядом других клеток. ИЛ-5 способствует формированию рецепторной гиперчувствительности стенки респираторного тракта. ИЛ-5 может оказывать прямое влияние на гладкую мышцу трахеи и бронхов [19].

Концентрация ИЛ-5 увеличивается в бронхоальвеолярной жидкости у сенситизированных морских свинок и крыс. Сох установил высокую концентрацию ИЛ-5 в бронхоальвеолярном лаваже у человека [20]. Применение моноклональных антител к ИЛ-5 приводило к снижению гиперреактивности мышцы трахеи и бронхов у морских свинок и мышей и улучшало функцию внешнего дыхания [21]. Аналогичные результаты получены в группе пациентов с тяжелой формой бронхиальной астмы [22]. Имеются сведения о влиянии ИЛ-5 на респираторный тракт морских свинок. Введение экзогенного ИЛ-5 на изолированные препараты бронхов морских свинок приводило к увеличению сократительной активности гладкой мышцы [20].

#### *Интерлейкин-6 (ИЛ-6)*

ИЛ-6 является провоспалительным цитокином и одним из первых появляется в кровотоке в связи с острой инфекцией. ИЛ-6 является одним из наиболее активных цитокинов, участвующих в реализации иммунного ответа и воспалительной реакции [23]. В дыхательных путях при аллергическом воспалении ИЛ-6 регулирует продукцию провоспалительных и противовоспалительных факторов. ИЛ-6 ингибирует продукцию ИЛ-1 и ФНО- $\alpha$  и активизирует противовоспалительные цитокины ИЛ-1 и ИЛ-10 [24]. Экспрессия белка ИЛ-6R наблюдается в макрофагах бронхоальвеолярного лаважа, эпителии дыхательных путей, эндотелии сосудов и гладких мышцах дыхательных путей [25]. ИЛ-6 может способствовать усугублению неблагоприятного течения астмы [26].

По данным Зенкиной у пациентов с atopической астмой регистрируется повышение уровня ИЛ-6 в сыворотке крови [27]. После вдыхания аллергена у пациентов с астмой наблюдалось значительное повышение уровня циркулирующего в крови ИЛ-6. Эти результаты предполагают, что ИЛ-6 участвует в механизмах развития бронхиальной астмы [28].

Имеются сведения о том, что ИЛ-6 синтезируется скелетными мышцами при их сокращении. ИЛ-6 индуцирует сокращение гладкой мышцы толстой кишки, воздействуя на нервные структуры и на гладкие мышцы крыс [23]. К аналогичным результатам при исследовании влияния ИЛ-6 на мышцу кишечника пришли Chang и Qin [29]. Tang и Zhou показали, что ИЛ-6 не влияет на тонус гладкой мускулатуры аорты крысы, но приводит к некоторому увеличению сократительных ответов мышцы при ее обработке адrenomиметиками [30].

Таким образом, ФНО- $\alpha$ , ИЛ-2, ИЛ-5, ИЛ-6 могут быть рассмотрены как цитокины, играющие значительную роль в патогенезе бронхиальной астмы. Из всех выбранных нами для данного исследования цитокинов наименее изученным в плане влияния на сокращения гладкой мышцы респираторного тракта является ИЛ-2. Относительно других цитокинов – ИЛ-5, ИЛ-6, ФНО- $\alpha$  – имеются некоторые прямые или косвенные данные об их роли в сокращении гладкой мышцы различных органов у различных животных.

С учетом того, что большинство исследований, посвященных этим цитокинам, позволяют оценить их роль в общей воспалительной реакции при бронхиальной астме, исследования непосредственного влияния этих цитокинов на сокращение гладкой мышцы трахеи и бронхов в условиях нормы и при экспериментальной модели бронхиальной астмы могут быть особенно актуальны. Также большое значение в экспериментах на изолированных препаратах имеет электрическая стимуляция постганглионарных нервов, что максимально приближает исследуемую систему к естественным физиологическим условиям. Поэтому целью настоящего исследования являлось изучение влияния ИЛ-2, ИЛ-5, ИЛ-6, ФНО- $\alpha$  на сокращение гладкой мышцы, трахеи и бронхов крысы с применением электрической стимуляции постганглионарных нервов в условиях физиологической нормы и экспериментальной модели сенсibilизации овальбумином крыс.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### *Процедура с животными*

В эксперименте было использовано 22 крысы линии Вистар обоего пола массой тела 180–270 г. Различий в сократительных реакциях мышц самцов и самок не было, так как самки были взяты для опытов в период диэструса. Животные содержались в виварии согласно санитарно-эпидемиологическим правилам СП 2.2.1.3218-14 “Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)”. С целью получения образцов респираторного тракта производилась декапитация. Общую анестезию проводили при помощи инъекций золетила (Virbac S.A., Франция, 20 мг/кг, внутримышечно). Такой подход обеспечивал быструю эвтаназию животного (удовлетворяющий рекомендациям по эвтаназии экспериментальных животных, Европейской комиссии, Приказу Минздрава РФ от 01.04.16 г. № 199н “Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики”) [31]. Далее животное закреплялось на столе для вскрытия. После этого вскрывали грудную клетку и затем производили операцию с извлечением дыхательных путей животного. Паренхиматозную ткань легких удаляли механически деревянным шпателем [32]. Дыхательные пути промывали в растворе Кребса–Хензелейта следующего состава (в мМ): 118 NaCl; 4.8 KCl; 1.18 MgSO<sub>4</sub>; 1.2 KН<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 2.5 CaCl<sub>2</sub>; 25 NaHCO<sub>3</sub>; 5.5 глюкоза, а затем готовили препараты трахеи и бронхов. Каждый препарат представлял собой образец трахеи или бронхов длиной 0.4–0.6 см и шириной 0.5–0.7 см. Образцы трахеи и бронхов брались из области бифуркаций, поскольку в этих участках присутствуют интрамуральные ганглии. Линия разреза трахеи и бронхов проходила через хрящевые полукольца. Гладкая мышца оставалась нетронутой. Препараты трахеи и бронхов помещали в камеру с раствором Кребса–Хензелейта, где один край препарата фиксировали иглами, а второй край устанавливали крючками-держателями, прикрепленными к электромеханическому датчику, регистрирующему величину сократительной реакции (измеряемой в миллиньютонах (мН)).

### *Оборудование*

В экспериментах использовали физиологический комплекс, поддерживающий нормальное протекание физиологических процессов в изолированных препаратах. Комплекс включал в себя специальные камеры для помещения в них препаратов трахеи и бронхов, ультратермостат, аэратор, насос перистальтический (ML0146/C-V, Multi Chamber Organ Baths, Panlab, Германия), электромеханические датчики (Grass FT-03 force displacement transducer, Astro Med, West Warwick, RI, США), электростимулятор (direct-current stimulator, Grass S44, Quincy, MA, США), персональный компьютер, специальное программное обеспечение (Chart v4.2 software, Power Lab, AD Instruments, Colorado Springs, CO, США).

### *Электрофизиологические эксперименты*

Во всех экспериментах использовалась стимуляция электрическим полем. Во время работы применялась электростимуляция постганглионарных нервных волокон (частота стимулов – 30 Гц, длительность – 0.5 мс, амплитуда – 20 В, длительность стимуляции – 10 с). Электростимуляция моделировала естественную проводимость электрических импульсов через постганглионарное звено рефлекторной цепи. В экспериментах изучалась сократительная реакция гладкой мускулатуры трахеи и бронхов крысы при использовании электростимуляции и фармакологических средств. Сначала проводили электростимуляцию препаратов трахеи и бронхов. Затем регистрировали сократительные реакции мышц. Эти ответы были приняты за базовый уровень (или 100%). После этого добавляли фармакологические вещества и регистрировали сократительные реакции мышц. Таким образом, регистрировали реакции трахеальной и бронхиальной мускулатуры с учетом электростимуляции и фармакологических препаратов. Величина сократительных реакций на применение препарата в значительной степени зависела от исходного тонуса гладкой мускулатуры, а также от контрольных сократительных реакций вследствие применения электростимуляции на фоне физиологического раствора. Несмотря на то, что все животные были одного возраста и выборка была однородной, вариабельность исходного тонуса и контрольных реакций (измеренных в мн) таких органов, как трахея и бронхи, была достаточно высокой, и этот факт определил учет сокращения в процентах (подсчитанных в процентах от базового уровня активности, взятого за 100%). Методы электростимуляции постганглионарных нервов взяты из методов исследования, предложенных Фединым [33].

### *Фармакологическая процедура*

В камерах с препаратами поддерживали необходимый уровень кислорода, температуру (37°C) и pH (6.9–7.1). Приток свежего раствора Кребса–Хензелейта обеспечивался регулярно, как и отток использованного [33].

В ходе экспериментов в камеры с препаратами вводили растворы следующих веществ: ФНО- $\alpha$  в концентрации 50 мг/мл, ИЛ-2 – 30 нг/мл, ИЛ-5 – 20 нг/мл, ИЛ-6 – 30 нг/мл. Все интерлейкины произведены фирмой Sigma-Aldrich, США. Концентрации фармакологических веществ были подобраны в лаборатории при проведении предварительных опытов, в которых физиологический эффект действия препарата был наиболее выражен. Исследованные интерлейкины поступали в камеры с препаратами при помощи перфузии в течение 120 мин, после чего производилась регистрация сократительной активности.

### *Процедура сенсibilизации животных*

Крысы были сенсibilизированы однократным внутрибрюшинным введением 0.2 нмоль овальбумина (Sigma-Aldrich, Германия), смешанного с 120 мкмоль гидроксида алюминия (Sigma-Aldrich, Германия) в качестве адьюванта. Через 14 дней проводилась аппликация овальбумина (1.2 нмоль/мл) в камеру с экспериментальными препаратами. Первичное введение овальбумина способствует развитию сенсibilизации организма животного. Повторная аппликация овальбумина приводит к дегрануляции тучных клеток в экспериментальных препаратах. Несенсibilизированной группе крыс в качестве контроля вводили внутрибрюшинно физиологический раствор [34].

### *Схема эксперимента*

Были сформированы две группы животных: контрольная (получала физиологический раствор) и экспериментальная, сенсibilизированная овальбумином (получала инъекцию овальбумина с его повторным введением в камеры с препаратами через 14 дней). Далее проводилась оценка сокращения мышцы трахеи и бронхов после повторного введения овальбумина и после перфузии растворами интерлейкинов.

### *Статистический анализ*

Статистический анализ проводился с помощью статистического пакета SPSS, версия 10.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, США). Сравнение между группами контрольных и экспериментальных результатов проводили с использованием независимых *t*-тестов. Значение  $p < 0.05$  считалось статистически значимым. Данные были выражены в виде среднего значения и стандартного отклонения.

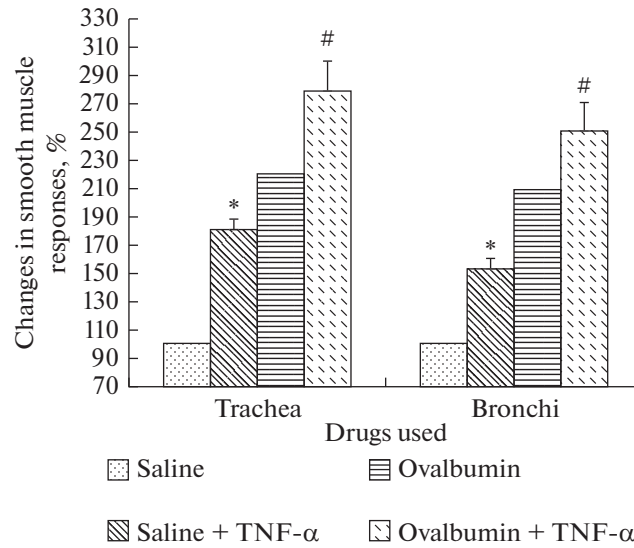
## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На фоне физиологического раствора (контрольная группа животных) ФНО- $\alpha$  вызывал выраженное увеличение сократительных ответов в препаратах трахеи и бронхов (рис. 1). После сенсibilизации овальбумином сократительные ответы мышцы в присутствии физиологического раствора возрастали до патологических значений. В экспериментальной модели с сенсibilизацией животных овальбумином сократительные ответы при введении в ванночки с препаратами ФНО- $\alpha$  достигали высоких значений.

На фоне физиологического раствора, ИЛ-2 приводил к повышению сократительных ответов гладкой мышцы трахеи и мышцы бронхов (рис. 2) как у сенсibilизированных овальбумином крыс на фоне применения электрической стимуляции постганглионарных нервов, так и при перфузии раствором интерлейкина-2.

На фоне физиологического раствора, ИЛ-5 вызывал возрастание сокращений мышцы трахеи (рис. 3). Сенсibilизация животных овальбумином с повторным его введением приводила к увеличению сократительных ответов мышцы трахеи. Поступление ИЛ-5 в камеру с препаратами способствовало увеличению сокращению трахеи и бронхов.

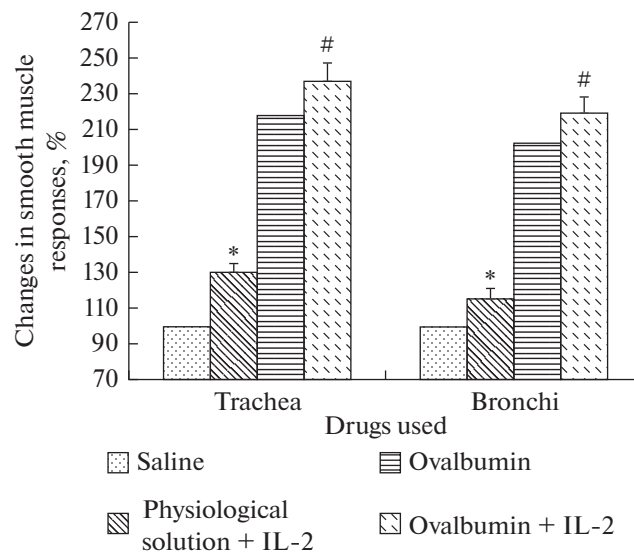
На фоне физиологического раствора (контрольная группа животных), ИЛ-6 вызывал увеличение сократительных ответов в препаратах трахеи и бронхов (рис. 4). В экспериментальной модели бронхиальной астмы сократительные ответы в препаратах трахеи и в препаратах бронхов увеличивались. При поступлении в камеры с препаратами интерлейкина-6 сократительные ответы в препаратах трахеи и бронхов возрастали.



**Рис. 1.** Сократительные ответы гладкой мышцы трахеи и бронхов в результате влияния ФНО- $\alpha$  на фоне физиологического раствора (контрольная группа животных) и на фоне овальбумина (экспериментальная группа животных).

\* – достоверное ( $p < 0.05$ ) отличие от контрольных значений,

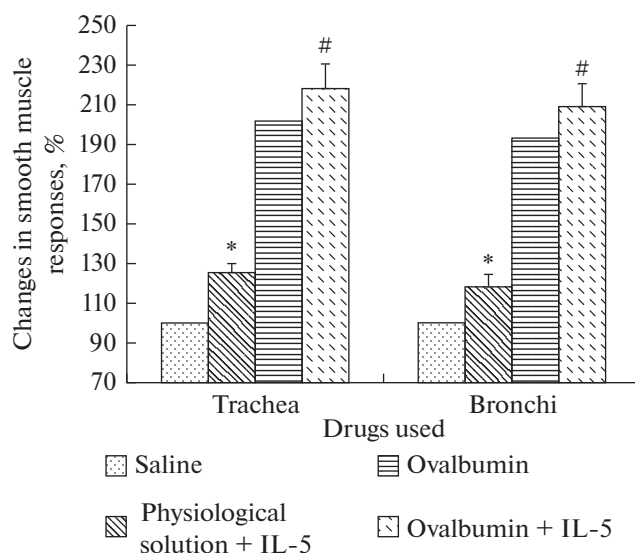
# – достоверное ( $p < 0.05$ ) отличие от значений ответов на фоне овальбумина.



**Рис. 2.** Сократительные ответы гладкой мышцы трахеи и бронхов в результате влияния ИЛ-2 на фоне физиологического раствора (контрольная группа животных) и на фоне овальбумина (экспериментальная группа животных).

\* – достоверное ( $p < 0.05$ ) отличие от контрольных значений,

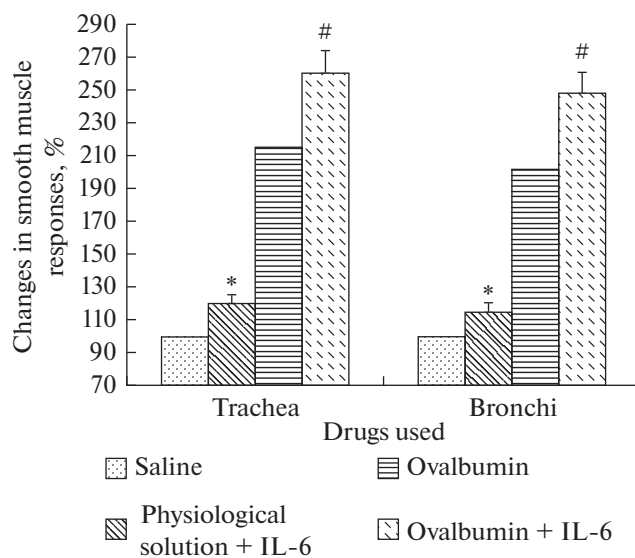
# – достоверное ( $p < 0.05$ ) отличие от значений ответов на фоне овальбумина.



**Рис. 3.** Сократительные ответы гладкой мышцы трахеи и бронхов в результате влияния ИЛ-5 на фоне физиологического раствора (контрольная группа животных) и на фоне овальбумина (экспериментальная группа животных).

\* – достоверное ( $p < 0.05$ ) отличие от контрольных значений,

# – достоверное ( $p < 0.05$ ) отличие от значений ответов на фоне овальбумина.



**Рис. 4.** Сократительные ответы гладкой мышцы трахеи и бронхов в результате влияния ИЛ-6 на фоне физиологического раствора (контрольная группа животных) и на фоне овальбумина (экспериментальная группа животных).

\* – достоверное ( $p < 0.05$ ) отличие от контрольных значений,

# – достоверное ( $p < 0.05$ ) отличие от значений ответов на фоне овальбумина.



## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

ФНО- $\alpha$  достоверно увеличивал значения сократительных ответов гладкой мышцы трахеи и бронхов крыс как в норме, так и в модели сенсibilизированных животных. При сравнении констрикторного эффекта ФНО- $\alpha$  на мышцу с эффектами ИЛ-2, ИЛ-5 и ИЛ-6 выяснилось, что ФНО- $\alpha$  оказывает самое сильное констрикторное влияние в исследуемых концентрациях. Полученные нами данные на респираторном тракте крысы согласуются с данными, полученными на других животных. О констрикторном влиянии ФНО- $\alpha$  на гладкую мышцу респираторного тракта мышей, морских свинок и крупного рогатого скота свидетельствуют результаты ряда исследователей [4–6]. В литературе найти сведения о влиянии ФНО- $\alpha$  на мышцу респираторного тракта крысы нам не удалось. Также следует отметить, что наши исследования проведены с применением электрической стимуляции постганглионарных нервов, что отличает от работ Amrani, Nakatani, Secher [4, 6, 7].

Такой мощный констрикторный эффект на мышцу ФНО- $\alpha$  можно связать не только с механизмами воздействия этого цитокина на миоциты через рецептор TNFR1, но и с прямым воздействием цитокина на ванилоидные рецепторы С-волокон.

ИЛ-6 также давал очень выраженный констрикторный эффект на гладкую мышцу трахеи и бронхов в условиях электрической стимуляции постганглионарных нервных волокон. Большие значения сократительных ответов можно также связать с двунаправленным действием этого цитокина: прямое воздействие на мышцу через рецептор ИЛ-6R и воздействием на нервные структуры (холинэргические нервные окончания, стреч-рецепторы, нервные окончания С-волокон) путем открытия натриевых каналов [28]. Полученные нами данные о влиянии ИЛ-6 на сократительные ответы гладкой мышцы получили частичное подтверждение результатов исследований Zhang и Chang, проведенных на гладкой мускулатуре кишечника крыс [29]. Аналогичных исследований на мышце респираторного тракта нам не удалось обнаружить.

Влияния ИЛ-2 и ИЛ-5 на сокращение мышцы приблизительно одинаковы в использованных в эксперименте концентрациях. ИЛ-2 увеличивал сократительные ответы мышцы трахеи сенсibilизированных крыс на 20.3% от фонового значения ( $217.8 \pm 6.1\%$ ), а ИЛ-5 увеличивал ответы трахеи на 17.6% (от значения  $201.7 \pm 6.1\%$ ). Гладкая мышца бронхов под влиянием ИЛ-2 увеличивала сократительный ответ на 16.9% от фонового значения ( $203.2 \pm 5.8\%$ ), а под влиянием ИЛ-5 сократительный ответ повышался на 15.8% от фонового значения ( $194.2 \pm 5.4\%$ ).

Результаты исследований по ИЛ-5 согласуются с данными Сазонова, полученными в экспериментах на морских свинках [35]. Информация по влиянию ИЛ-2 на сокращения мышцы респираторного тракта практически отсутствует. Полученные данные представляют новые сведения о влиянии ИЛ-2 на гладкую мышцу и могут найти косвенное подтверждение в работе Park и Lee, доказывающей связь между высоким уровнем ИЛ-2 в бронхоальвеолярном лаваже со снижением функции внешнего дыхания [13].

Таким образом, проведенное нами исследование продемонстрировало, что ИЛ-2, ИЛ-5, ИЛ-6 и ФНО- $\alpha$  оказывают констрикторное влияние на гладкую мышцу трахеи и бронхов крысы на фоне применения электрической стимуляции постганглионарных нервов в условиях физиологической нормы и у сенсibilизируемых овалбумином животных. Наибольшее констрикторное влияние на мышцу среди исследованных цитокинов принадлежит ФНО- $\alpha$  и ИЛ-6.

## ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование проведено на внебюджетные средства Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования “Петрозаводский государственный университет”.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

## ВКЛАД АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента – Л.Е.Б., О.Е.С., В.М.К., А.И.К., сбор данных – Л.Е.Б., О.Е.С., обработка данных – Л.Е.Б., О.Е.С., В.М.К., А.И.К., написание и редактирование статьи – Л.Е.Б., О.Е.С.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Brightling C, Berry M, Amrani Y* (2008) Targeting TNF-alpha: a novel therapeutic approach for asthma. *J Allergy Clin Immunol* 121: 5–10.  
<https://doi.org/10.1016/j.jaci.2007.10.028>
2. *Tartaglia LA, Goeddel DV* (1992) Two TNF receptors. *Immunol Today* 13: 151–153.  
[https://doi.org/10.1016/0167-5699\(92\)90116-O](https://doi.org/10.1016/0167-5699(92)90116-O)
3. *Matsunaga K, Yanagisawa S, Ichikawa T, Ueshima K, Akamatsu K, Hirano T* (2006) Airway cytokine expression measured by means of protein array in exhaled breath condensate: correlation with physiologic properties in asthmatic patients. *J Allergy Clin Immunol* 118: 84–90.  
<https://doi.org/10.1016/j.jaci.2006.04.020>
4. *Amrani Y, Chen H, Panettieri RA* (2000) Activation of tumor necrosis factor receptor 1 in airway smooth muscle: a potential pathway that modulates bronchial hyper-responsiveness in asthma? *Respirat Res* 1: 49–53.  
<https://doi.org/10.1186/rr12>
5. *Amrani Y, Panettieri RA* (1998) Cytokines induce airway smooth muscle cell hyperresponsiveness to contractile agonists. *Thorax* 53: 713–716.  
<https://doi.org/10.1136/thx.53.8.713>
6. *Nakatani Y, Nishimura Y, Nishiuma T, Maeda H, Yokoyama M* (2000) Tumor necrosis factor- $\alpha$  augments contraction and cytosolic  $Ca^{2+}$  through phospholipase A2 in bovine tracheal smooth muscle. *Eur J Pharmacol* 392:175–182.  
[https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(00\)00087-X](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(00)00087-X)
7. *Secher T, Coelho RF, Noulon N, Lino dos Santos Franco A, Quesniaux V, Lignon J, Mitchell J, Moser R, Gomes E, Mirotti L, Tavares-de-Lima W, Ryffel B* (2012) Enhancement of Methacholine-Evoked Tracheal Contraction Induced by Bacterial Lipopolysaccharides Depends on Epithelium and Tumor Necrosis Factor. *J Allergy* 2012: 494085.  
<https://doi.org/10.1155/2012/494085>
8. *Thomas PS, Yates DH, Barnes PJ* (1995) Tumor necrosis factor-alpha increases airway responsiveness and sputum neutrophilia in normal human subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 152: 76–80.  
<https://doi.org/10.1164/ajrccm.152.1.7599866>
9. *Mazzone SB, Undem BJ* (2016) Vagal Afferent Innervation of the Airways in Health and Disease. *Physiol Rev* 96: 975–1024.  
<https://doi.org/10.1152/physrev.00039.2015>
10. *Nicol GD, Lopshire JC, Pafford CM* (1997) Tumor necrosis factor enhances the capsaicin sensitivity of rat sensory neurons. *J Neurosci* 17: 975–982.  
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.17-03-00975.1997>
11. *Watanabe N, Horie S, Michael GJ, Keir S, Spina D, Page CP* (2006) Immunohistochemical colocalization of transient receptor potential vanilloid (TRPV)1 and sensory neuropeptides in the guinea-pig respiratory system. *Neuroscience* 141: 1533–1543.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.04.073>
12. *Hu Y, Gu Q, Lin RL, Kryscio R, Lee LY* (2010) Calcium transient evoked by TRPV1 activators is enhanced by tumor necrosis factor-alpha in rat pulmonary sensory neurons. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 299: L483–L492.  
<https://doi.org/10.1152/ajplung.00111.2010>
13. *Christensen U, Haagerup A, Binderup HG, Vestbo J, Kruse TA, Børglum AD* (2006) Family based association analysis of the IL2 and IL15 genes in allergic disorders. *Eur J Hum Genet* 14(2):

- 227–235.  
<https://doi.org/10.1038/sj.ejhg.5201541>
14. Park CS, Lee SM, Uh ST, Kim HT, Chung YT, Kim YH, Choi BW, Hue SH, Lee HB (1993) Soluble interleukin-2 receptor and cellular profiles in bronchoalveolar lavage fluid from patients with bronchial asthma. *J Allergy Clin Immunol* 91(2): 623–633.  
[https://doi.org/10.1016/0091-6749\(93\)90268-k](https://doi.org/10.1016/0091-6749(93)90268-k)
  15. Kanagalingam T, Solomon L, Vijeyakumaran M, Palikhe NS, Vliagoftis H, Cameron L (2019) IL-2 modulates Th2 cell responses to glucocorticosteroid: A cause of persistent type 2 inflammation? *Immunity, Inflammation and Disease*. *Immun Inflamm Dis* 7: 112–124.  
<https://doi.org/10.1002/iid3.249>
  16. Tang RB, Chen SJ (2001) Soluble interleukin-2 receptor and interleukin-4 in sera of asthmatic children before and after a prednisolone course. *Ann Allergy Asthma Immunol* 86(3): 314–317.  
[https://doi.org/10.1016/S1081-1206\(10\)63305-4](https://doi.org/10.1016/S1081-1206(10)63305-4)
  17. Shimizu H, Obase Y, Katoh S, Mouri K, Kobashi Y, Oka M (2013) Critical role of interleukin-5 in the development of a mite antigen-induced chronic bronchial asthma model. *Inflammat Res* 62: 911–917.  
<https://doi.org/10.1007/s00011-013-0651-y>
  18. Salvi S, Semper A, Blomberg A (1999) Interleukin-5 production by human airway epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 20: 984–991.  
<https://doi.org/10.1165/ajrcmb.20.5.3463>
  19. Tominaga A, Takaki S, Koyama N, Katoh S (1991) Transgenic mice expressing a B cell growth and differentiation factor gene (IL-5) develop eosinophilia and autoantibody production. *J Exp Med* 173: 429–437.  
<https://doi.org/10.1084/JEM.173.2.429>
  20. Cox LS (2009) How safe are the biologicals in treating asthma and rhinitis? *Allergy, Asthma, Clin Immunol* 5(1): 4.  
<https://doi.org/10.1186/1710-1492-5-4>
  21. Oosterhout AJ, Lodenius AR, Savelkoul HF (1993) Effect of anti-IL-5 and IL-5 on airway hyperreactivity and eosinophils in guinea-pig. *Am Rev Respir Dis* 147: 548–552.  
<https://doi.org/10.1164/ajrccm/147.3.548>
  22. Haldar P, Brightling CE, Hargadon B (2009) Mepolizumab and exacerbations of refractory eosinophilic asthma. *N Engl J Med* 360: 973–984.  
<https://doi.org/10.1056/NEJMoa0808991>
  23. Ostrowski K, Schjerling P, Pedersen BK (2000) Physical activity and plasma interleukin-6 in humans: effect of intensity of exercise. *Eur J Appl Physiol* 83: 512–515.  
<https://doi.org/10.1007/s004210000312>
  24. Ferrerira MA, Matheson MC, Duffy DL (2011) Identification of IL-6R and chromosome 11q13.5 as risk loci for asthma. *Lancet* 378: 1006–1014.  
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)60874-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60874-X)
  25. Taga T, Hibi M, Hirata Y (1989) Interleukin-6 triggers the association of its receptor with a possible signal transducer, gp130. *Cell* 58.S3: 573–581.  
[https://doi.org/10.1016/0092-8674\(89\)90438-8](https://doi.org/10.1016/0092-8674(89)90438-8)
  26. Hawkins GA, Robinson MB, Hastie AT (2012) The IL6R variation Asp(358)Ala is a potential modifier of lung function in subjects with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 130: 510–515.  
<https://doi.org/10.1016/j.jaci.2012.03.018>
  27. Зенкина ЛВ, Смирнова СВ, Кадричева СГ (2008) Бронхиальная астма: концентрация ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИФН и ТФНА в сыворотке периферической крови и изменения в иммунном статусе при атопии и псевдоатопии. *Вестник клин больницы № 51* 3: 42–47. [Zenkina LV, Smirnova SV, Kadrichева SG (2008) Bronchial asthma: concentration of IL-2, IL-4, IL-6, IFN and TFNA in peripheral blood serum and changes in immune status in atopy and pseudo-atopia. *Clin Hospital Bull No 51* 3: 42–47. (In Russ)].
  28. Yokoyama A, Kohno N, Fujino S, Hamada H, Inoue Y, Fujioka S, Ishida S, Hiwada K (1995) Circulating interleukin-6 levels in patients with bronchial asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 151(5): 1354–1358.  
<https://doi.org/10.1164/ajrccm.151.5.7735584>
  29. Chang XW, Qin Y, Jin Z, Xi TF, Yang X, Lu ZH, Tang YP, Cai WT, Chen SJ, Xie DP (2015) Interleukin-6 (IL-6) mediated the increased contraction of distal colon in streptozotocin-induced diabetes in rats via IL-6 receptor pathway. *J Clin Exp Pathol* 8(5): 4514–4524.
  30. Tang WB, Zhou YQ, Zhou T, Shan JL, Sun P, Yang TT, Chang XW, Li S, Wang PS, Xie DP (2011) Effect of interleukin-6 (IL-6) on the vascular smooth muscle contraction in abdominal aorta of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Chin J Physiol* 54(5): 318–323.  
<https://www.pubfacts.com/detail/22135910/Effect-of-interleukin-6-IL-6-on-the-vascular-smooth-muscle-contraction-in-abdominal-aorta-of-rats-wi>

31. *Close B, Banister K, Baumans V, Warwick C* (1997) Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 2. DGXT of the European Commission. *Labor Animals J* 31: 1–32. <https://doi.org/10.1258/002367797780600297>
32. *Hatzjefthimiou A, Karetsi E, Pratzoudis E, Gourgoulianis K, Molyddas P* (2005) Resting tension on airway smooth muscle: the involvement of epithelium. *Respir Physiol Neurobiol J* 145: 201–208. <https://doi.org/10.1016/j.resp.2004.06.004>
33. *Федин АН, Алиева ЕВ, Ноздрачев АД* (1997) Реакции гладкой мышцы трахеи на гистамин. *Рос физиол журн им ИМ Сеченова* 83:102–108. [Fedin AN, Alieva EV, Nozdrachev AD (1997) Reactions of the smooth muscle of the trachea to histamine. *Russ J Physiol* 83: 102–108. (In Russ)].
34. *Masakazu Y, Osamu S, Kenji N, Tetsuji M, Koji S* (2006) Propofol Attenuates Ovalbumin-Induced Smooth Muscle Contraction of the Sensitized Rat Trachea: Inhibition of Serotonergic and Cholinergic Signaling. *Anesthesia & Analgesia J* 3: 594–600. <https://doi.org/10.1213/01.ane.0000229853.01875.60>
35. *Сазонов АЭ, Лецевой ИС, Дьяковой ЕЮ, Копьевой АП* (2003) Влияние интерлейкина-5 на сократительную активность гладкомышечных препаратов бронхов морских свинок. *Науки о человеке* 1:161–162. [Sazonov AE, Leshchevoy IS, Dyakova EYu, Kopyevoy AP (2003) The effect of interleukin-5 on the contractile activity of smooth muscle preparations of the bronchi of guinea pigs. *Human Sciences* 1: 161–162. (In Russ)].

#### **Influence of TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-5, IL-6 on Contraction of the Muscles of the Trachea and Bronchi of the Rat**

**L. E. Blazhevich<sup>a,\*</sup>, O. E. Smirnova<sup>a</sup>, V. M. Kirilina<sup>a</sup>, and A. I. Krivchenko<sup>b</sup>**

<sup>a</sup>*Petrozavodsk State University, Petrozavodsk, Russia*

<sup>b</sup>*Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia*

*\*e-mail: lyu15041988@yandex.ru*

The article discusses the role of TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-5, IL-6 in the contractile activity of the smooth muscles of the trachea and bronchi of rats. The studies were carried out on isolated preparations using electrical stimulation of postganglionic nerves (frequency – 30 stim/s, duration – 0.5 ms, amplitude – 20 V, duration of stimulation – 10 s). Two groups of animals were formed: a control group (received an intraperitoneal injection of saline) and an experimental group sensitized with ovalbumin (received an intraperitoneal injection of ovalbumin with its repeated administration after 14 days). Further, the assessment of the contraction of the muscles of the trachea and bronchi after repeated administration of ovalbumin and after perfusion with interleukin solutions was carried out. As a result of the study, it was found that TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-5, IL-6 lead to a pronounced increase in the contractile responses of the smooth muscle of the trachea and bronchi both in the control group of animals and in the group of animals sensitized with ovalbumin. The greatest constrictor effect on muscle among the studied cytokines belongs to TNF- $\alpha$  and IL-6.

*Keywords:* cytokines, sensitization with ovalbumin, smooth muscles of the trachea and bronchi