

**ВЛИЯНИЕ ИНГИБИРОВАНИЯ ЦИКЛООКСИГЕНАЗНЫХ ПУТЕЙ
НА РЕЗИСТЕНТНОСТЬ К НАРАСТАЮЩЕЙ ГИПОКСИИ У КРЫС
С ПОВЫШЕННЫМ УРОВНЕМ ИНТЕРЛЕЙКИНА-1 БЕТА**

© 2020 г. Ж. А. Дони́на^{1, *}, Е. В. Баранова¹, Н. П. Александрова¹

¹Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: zdonina@mail.ru

Поступила в редакцию 23.04.2020 г.

После доработки 15.09.2020 г.

Принята к публикации 20.09.2020 г.

В настоящее время актуальной проблемой физиологии и медицины критических состояний является выяснение механизмов влияния гиперцитокинемии, развивающейся при острых вирусных и бактериальных инфекциях, на развитие дыхательной недостаточности и устойчивость организма к быстро нарастающей гипоксии. Целью настоящего исследования явилось выявление участия циклооксигеназных путей в формировании реакций респираторной системы и резистентности к нарастающей гипоксии на фоне повышенного системного уровня интерлейкина-1 β (IL-1 β), являющегося ключевым воспалительным медиатором в острой фазе развития системной воспалительной реакции. Исследование проведено на 4-х группах наркотизированных крыс линии Вистар ($n = 48$) с внутривенным введением: физиологического раствора (контроль), неселективного ингибитора циклооксигеназы диклофенака (1.5 мг/кг), IL-1 β (500 нг в 1 мл 0.9%-ного NaCl) и сочетанного введения диклофенака и IL-1 β . Все группы животных подвергались действию нарастающей гипоксии, которая создавалась методом “возвратного дыхания”. Продолжительность гипоксического воздействия составляла несколько минут: от нормоксии до остановки дыхания (апноэ). Полученные результаты показали, что повышение системного уровня IL-1 β усугубляет действие острой, быстро нарастающей гипоксии, вызывая более значительное снижение содержания кислорода в артериальной крови, связанное с резким уменьшением прироста вентиляции в ответ на действие гипоксического стимула. При этом наблюдается выраженное подавляющее влияние IL-1 β на увеличение инспираторных колебаний внутригрудного давления на прирост дыхательного объема при гипоксическом воздействии. Кроме того, повышение системного уровня IL-1 β ускоряет остановку дыхания, вызванную острой гипоксией. Апноэ возникает при меньшем уровне гипоксической стимуляции и заканчивается летальным исходом у всех животных данной экспериментальной группы. Предварительное ингибирование циклооксигеназной активности диклофенаком уменьшает угнетающее влияние IL-1 β на гипоксический ответ респираторной системы, повышает уровень оксигенации артериальной крови до контрольных значений и увеличивает выживаемость в постгипоксическом периоде. Сделан вывод о том, что активация циклооксигеназных путей при действии провоспалительных цитокинов может быть одним из основных механизмов, опосредующих их влияние на респираторную функцию и резистентность к нарастающей гипоксии.

Ключевые слова: интерлейкин-1 β , респираторная система, гипоксемия, апноэ, циклооксигеназа

DOI: 10.31857/S0869813920110047

Значительный интерес для физиологии и медицины представляют исследования гипоксических состояний. Изучению стабильного кратковременного или хронического влияния гипоксии на функциональное состояние здорового организма посвящено большое количество исследований [1–4]. В ряде работ показано положительное влияние определенных режимов интервальной гипоксической тренировки на кардиореспираторную систему [5, 6]. Вместе с тем при тяжелых патологических состояниях, сопровождающихся развитием дыхательной недостаточности, стремительно развивающаяся гипоксия часто приводит к возникновению угрожающих для жизни состояний. Известно, что респираторный дистресс-синдром, характеризующийся острой дыхательной недостаточностью, сопровождается развитием системной воспалительной реакции, в основе которой лежит резкое увеличение системного уровня провоспалительных цитокинов. Актуальным представляется выяснение механизмов влияния провоспалительных цитокинов на развитие дыхательной недостаточности и устойчивость организма к быстро нарастающей острой гипоксии.

Как известно, системная воспалительная реакция является неспецифическим универсальным ответом организма на внедрение патогенных агентов, в том числе, вирусной или бактериальной инфекции. Механизмом активации воспалительного процесса является массивная продукция провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6, ФНО- α) и других медиаторов воспаления, которым в прогрессировании системной воспалительной реакции принадлежит ключевая роль [7, 8]. В ряде экспериментальных работ показано, что цитокины принимают участие в нейроиммунных взаимодействиях в центральной нервной системе. Рецепторы IL-1 β и ФНО- α обнаружены в микроглии, нейронах, астроцитах и эндотелиальных клетках сосудов во многих областях мозга, в том числе, в тех, которые участвуют в центральной регуляции респираторной функции — ядре солитарного тракта и вентролатеральном отделе продолговатого мозга [8–10, 12, 13]. Влияние цитокинов на физиологические функции может быть опосредовано несколькими способами: высвобождением простагландинов, норэпинефрина, рилизинг-фактора кортикотропина, оксида азота [14–16]. В наших предыдущих исследованиях было установлено участие провоспалительного цитокина IL-1 β в центральных механизмах гиперкапнических и гипоксических дыхательных хеморефлексов [17, 18]. Кроме того, результаты, полученные с применением неселективного блокатора синтазы оксида азота (NOS) L-NAME показали, что снижение резистентности к острой гипоксии при повышенном системном уровне IL-1 β сопровождается изменением функционального состояния вазомоторного центра, обусловленного влиянием NO-зависимых механизмов на нейроны мозгового ствола [19]. Однако при развитии нарастающей острой гипоксии на фоне действия IL-1 β наблюдалось изменение реакции на гипоксию не только со стороны сердечно-сосудистой, но и со стороны дыхательной системы. Вместе с тем, блокада NOS не оказывала влияния на изменение вентиляционных параметров при действии гипоксии на фоне повышенного системного уровня IL-1 β . В результате было сделано предположение, что действие IL-1 β на дыхательную систему, которое тоже может влиять на устойчивость организма к острой гипоксии, реализуется посредством других медиаторов воспаления, среди которых возможными кандидатами являются простагландины.

Целью настоящего исследования явилось выявление участия циклооксигеназных путей в формировании реакций респираторной системы и резистентности к нарастающей гипоксии на фоне повышенного системного уровня IL-1 β , являющегося ключевым воспалительным медиатором в острой фазе развития системной воспалительной реакции.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа проведена на животных из биокolleкции “Коллекция лабораторных млекопитающих разной таксономической принадлежности” Института физиологии им. И.П. Павлова РАН, поддержанной программой биоресурсных коллекций ФАНО России. Исследование проводилось в соответствии с принципами Базельской декларации об использовании животных для экспериментальных исследований, а также рекомендациями биоэтического комитета ФГБУН Института физиологии им. И.П. Павлова РАН (заключение № 02/04 от 06 апреля 2020 г.).

Опыты выполнены на 48 крысах-самцах линии Вистар массой 280–300 г, наркотизированных внутрибрюшинным введением уретана (1000 мг/кг). Уретан часто используется в ветеринарии, а также при проведении острых экспериментов на лабораторных животных. Использование уретана в данной работе обосновано тем, что он вызывает наркоз без стадии двигательного возбуждения, с малыми отклонениями со стороны дыхания и сердечно-сосудистой системы. Препарат обладает длительным стабильным действием, что позволяет поддерживать основные показатели функционального состояния животного (величину артериального давления, частоту сердечных сокращений, глубину дыхания) на постоянном уровне в течение всего эксперимента.

В процессе хирургической подготовки животных производилась имплантация катетеров в бедренную вену, введение трахеостомической канюли и внутрипищеводного зонда. Животные были случайным образом разделены на 4 группы по 12 крыс в каждой. В процессе исследования было поставлено 4 серии экспериментов. В 1-ой серии контрольной группе крыс вводили физиологический раствор (1 мл 0.9%-ного раствора NaCl). Во 2-ой серии животным второй группы вводился неселективный блокатор циклооксигеназы (COX) – диклофенак (ОАО “Синтез”, Россия) из расчета 1.5 мг/кг. Неселективность диклофенака проявляется в том, что он ингибирует оба изофермента циклооксигеназы – и COX-1 и COX-2. Однако достоверно установлено, что при действии диклофенака в гораздо большей степени ингибируется COX-2, которая образуется под воздействием цитокинов, запускающих воспалительную реакцию. Третьей группе крыс вводился провоспалительный цитокин интерлейкин-1 β (IL-1 β) в количестве 500 нг в 1 мл 0.9%-ного раствора NaCl. Четвертой группе животных IL-1 β вводился после предварительного введения диклофенака. Все применяемые препараты вводились в бедренную вену в объеме 1 мл.

Протокол эксперимента был следующим: по истечении 70 мин после введения препаратов и регистрации фоновых значений в нормоксических условиях животных переключали на систему “возвратного дыхания”, описанную ранее [19], и начинали тестирование нарастающей гипоксии (от нормоксии до полной остановки дыхания). При возвратном дыхании избыток CO₂ поглощался адсорбентом. После апноэ крыс отключали от гипоксического воздействия. Эвтаназию животных после окончания эксперимента осуществляли передозировкой уретана.

Регистрировали: фракционное содержание O₂ во вдыхаемой газовой смеси (F_{I O₂}), продолжительность дыхания гипоксической смесью до наступления апноэ (время жизни), длительность гипоксического апноэ до спонтанного появления первого вдоха – время восстановления, выживаемость в постгипоксическом периоде в % от контроля. В ходе эксперимента непрерывно проводилась регистрация параметров внешнего дыхания. Для измерения объемной скорости инспираторного потока (Vi), величины дыхательного объема и частоты дыхания использовался метод пневмотахографии. Минутный объем дыхания вычислялся как произведение величины дыхательного объема и количества дыхательных движений за одну минуту. Для оценки силы сокращений инспираторных мышц регистрировались инспираторные ко-

Таблица 1. Параметры дыхания при введении NaCl, диклофенака и IL-1 β в условиях нормоксии**Table 1.** Respiratory variables during normoxia after administration NaCl, diclofenac and IL-1 β

Показатели Variables	Контроль NaCl Control	Диклофенак Diclofenac	IL-1 β IL-1 β
Дыхательный объем, мл Tidal volume, ml	0.95 \pm 0.20	0.93 \pm 0.12	2.3 \pm 0.1*
Частота дыхания, мин ⁻¹ Breathing frequency, min ⁻¹	80 \pm 4	82 \pm 3	93 \pm 2
Минутный объем дыхания, мл/мин Minute ventilation, ml/min	76 \pm 3	76 \pm 2	214 \pm 6*
Внутригрудное давление, см водн.ст. Esophageal pressure, cm H ₂ O	0.5 \pm 0.1	0.5 \pm 0.1	0.4 \pm 0.1

В таблице приводятся среднее арифметическое и ошибка среднего ($M \pm m$). * $p < 0.05$ по сравнению с контролем. Число животных в каждой группе равно 12.

Table 1 show that in normoxic rats administration of IL-1 β evokes significantly increase in tidal volume and minute ventilation. Diclofenac had no effect on lung ventilation and its components. Data are presented as mean \pm SEM. * $p < 0.05$ compared with control. The number of animals in each group is 12.

лебания внутригрудного давления с помощью баллонографического метода. Инспираторные колебания внутригрудного давления преобразовывались в электрический сигнал при помощи электроманометра ПДП-1000. Непрерывный мониторинг насыщения крови кислородом (SpO₂%) проводился методом пульсоксиметрии, используя ветеринарный пульсоксиметр типа UT (Zoomed, Россия). Фракционное содержание (F_IO₂) кислорода и углекислого газа (F_ICO₂) в выдыхаемой газовой смеси измерялось соответственно газоанализатором кислорода ПГК-06 (Инсовт, Санкт-Петербург) и газоанализатором МАГ-6П (Эксис, Москва). Сигналы пневмотахограммы и внутригрудного давления оцифровывались и сохранялись на твердом диске персонального компьютера при помощи аппаратно-программного комплекса, созданного на основе устройства сбора биологических данных Biograf-7 (разработка ГУАП, Санкт-Петербург, Россия).

Статистический анализ данных производился с использованием программы Statistica 6.0 (Windows). Вычислялась средняя величина и ошибка средней регистрируемых показателей ($M \pm m$). Достоверность различий оценивали с помощью *t*-критерия Стьюдента. Различия считали достоверными при $p < 0.05$. Сравнительную оценку исследуемых параметров проводили при максимальной гипоксической стимуляции на уровне 10% O₂. Сравнения производились между контрольной и всеми экспериментальными группами, а также между 3-ей (введение IL-1 β) и 4-ой (введение IL-1 β на фоне действия диклофенака) экспериментальными группами.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Установлено, что введение IL-1 β в нормоксических условиях при дыхании воздухом вызывало достоверное увеличение дыхательного объема (на 140 \pm 12%) и минутного объема дыхания (на 182 \pm 19%). Наблюдалась также незначительная тенденция к увеличению частоты дыхания. Введение диклофенака не оказывало влияния на параметры внешнего дыхания (табл. 1).

При действии нарастающей гипоксии характер динамики минутного объема дыхания во всех группах животных имел сходную направленность. При умеренной степени гипоксии (F_IO₂ = 17–15%) отмечалось нарастание легочной вентиляции, углубление тяжести гипоксии (F_IO₂ = 15–8%) сопровождалось постепенным снижением минутного объема дыхания в результате уменьшения дыхательного объема

и частоты дыхания. Дальнейшее падение концентрации O_2 во вдыхаемой газовой смеси приводило к еще большему угнетению легочной вентиляции, развитию терминального типа дыхания, появлению гаспингов – редких и резких судорожных вдохов, переходящих в апноэ. В процессе нарастания гипоксии остановка дыхания в контроле и в разных экспериментальных группах происходила при различном содержании O_2 во вдыхаемой газовой смеси.

Сравнительная оценка реакций исследованных параметров у разных групп животных проводилась при одинаковом уровне гипоксической стимуляции ($F_{IO_2} = 10\%$). Как показано на рис. 1, прирост минутного объема дыхания при данном уровне гипоксии у крыс контрольной группы составлял $80 \pm 3\%$ по сравнению с дыханием воздухом ($p < 0.05$). Введение ИЛ-1 β угнетало вентиляционную реакцию на гипоксию, минутный объем дыхания возрастал всего на $7 \pm 1\%$ ($p < 0.05$). На фоне действия диклофенака влияние ИЛ-1 β ослабевало, угнетение вентиляционной реакции на гипоксию было выражено в меньшей степени: минутный объем дыхания возрастал на $42 \pm 5\%$ по сравнению с его величиной при дыхании воздухом ($p < 0.05$). Следует отметить, что во всех экспериментальных группах угнетение прироста минутного объема дыхания происходило, прежде всего, за счет уменьшения прироста дыхательного объема. Изменение частотного компонента вентиляционной реакции в группе с введением ИЛ-1 β достоверно не отличалось от контроля. Предварительное введение диклофенака ослабляло влияние ИЛ-1 β : в группе животных с совместным введением этих препаратов снижение прироста дыхательного объема и уменьшение частоты дыхания при гипоксии были достоверно ниже, чем при введении только ИЛ-1 β (рис. 1А, В).

В группе с введением ИЛ-1 β по сравнению с контрольной группой наблюдалось также достоверное снижение прироста величины инспираторных колебаний внутригрудного давления в ответ на гипоксическое воздействие. Так, если в контроле при данной степени гипоксии инспираторные колебания внутригрудного давления возрастали на $170 \pm 23\%$, т.е. более чем в два раза, то при действии ИЛ-1 β прирост снижался до $20 \pm 8\%$. Введение ИЛ-1 β на фоне действия диклофенака не вызывало достоверного уменьшения прироста инспираторных колебаний внутригрудного давления, отражающих силу сокращений инспираторных мышц (рис. 1D).

При гипоксической стимуляции ($F_{IO_2} = 10\%$) у всех групп животных наблюдалось снижение насыщения артериальной крови кислородом по сравнению с нормоксией (рис. 2). При этом в группе с введением ИЛ-1 β падение сатурации O_2 крови оказалось более выраженным, чем в остальных группах: SpO_2 снижалась до $56 \pm 3\%$. У крыс с предварительным введением диклофенака действие ИЛ-1 β не оказывало дополнительного эффекта: SpO_2 при гипоксической стимуляции снижался до $69 \pm 3\%$, так же, как и в контрольной группе.

Экспериментальные данные, характеризующие резистентность к острой гипоксии, показали, что влияние ИЛ-1 β в условиях нарастающей гипоксии в 1.5 раза сокращало продолжительность периода дыхания до точки апноэ по сравнению с контрольной группой. Остановка дыхания происходила при меньшей степени гипоксии: F_{IO_2} в 2.4 раза превышало соответствующее значение в контрольной группе животных. Длительность апноэ у животных, самостоятельно восстановивших дыхание, имела тенденцию к уменьшению по сравнению с остальными группами. Однако, несмотря на это, в группе с повышенным уровнем ИЛ-1 β спонтанное восстановление дыхания после снятия гипоксической нагрузки наблюдалось только у 50% животных. В группе крыс, которым ИЛ-1 β вводился на фоне действия диклофенака, достоверных изменений регистрируемых параметров по сравнению с контрольными значениями не наблюдалось, у всех животных происходило восстановление дыхания (табл. 2).

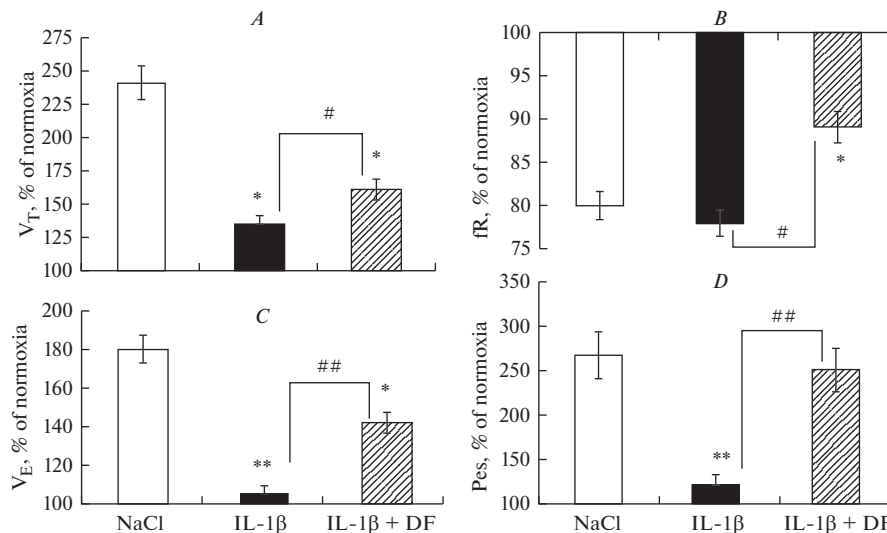


Рис. 1. Изменения параметров внешнего дыхания при гипоксической стимуляции у крыс контрольной группы (NaCl), группы с введением IL-1 β и группы с введением IL-1 β на фоне действия диклофенака (IL-1 β + DF) ($F_{IO_2} = 10\%$) по сравнению с нормоксическим дыханием ($F_{IO_2} = 21\%$). По оси абсцисс: исследуемые группы.

По оси ординат: *A* – дыхательный объем (V_T); *B* – частота дыхания (fR); *C* – минутный объем дыхания (V_E); *D* – инспираторные колебания внутригрудного давления (Pes). За 100% принята величина параметров при дыхании воздухом ($F_{IO_2} = 21\%$).

* $p < 0.05$; ** $p < 0.001$ по сравнению с контролем; # $p < 0.05$; ## $p < 0.001$ между экспериментальными группами. Число животных в каждой группе равно 12.

Fig. 1. Changes in the respiratory parameters under hypoxic stimulation ($F_{IO_2} = 10\%$) in rats of the control group (NaCl), the group with the administration of IL-1 β only and the group with the administration of IL-1 β which diclofenac (IL-1 β + DF) compared with normoxic respiration ($F_{IO_2} = 21\%$).

Panel *A* – V_T (tidal volume), *B* – fR (frequency rate), *C* – V_E (minute ventilation), *D* – Pes (inspiratory swings of esophageal pressure). Data are presented as mean \pm SEM. The value of parameters for breathing air ($F_{IO_2} = 21\%$) is taken as 100%.

* $p < 0.05$; ** $p < 0.001$ compared to control, # $p < 0.05$; ## $p < 0.001$ differences between the experimental groups. IL-1 β significantly decreases the ventilatory response to acute hypoxia. A non-selective cyclooxygenase inhibitor diclofenac reduces the depressive effects of IL-1 β on the hypoxic ventilatory response). The number of animals in each group is 12.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные результаты свидетельствуют о том, что повышение системного уровня IL-1 β усугубляет действие острой быстро нарастающей гипоксии, вызывая более значительное снижение содержания кислорода в артериальной крови. Так, после введения IL-1 β уменьшение фракционного содержания кислорода в дыхательной газовой смеси до 10% вызвало снижение сатурации артериальной крови до $56 \pm 3\%$, тогда как в группе животных с нормальным уровнем IL-1 β при таком же снижении кислорода в дыхательной смеси сатурация уменьшалась только до $69 \pm 3\%$. Более значительный уровень гипоксемии при действии IL-1 β был связан с резким уменьшением прироста минутного объема дыхания в ответ на действие гипоксиче-

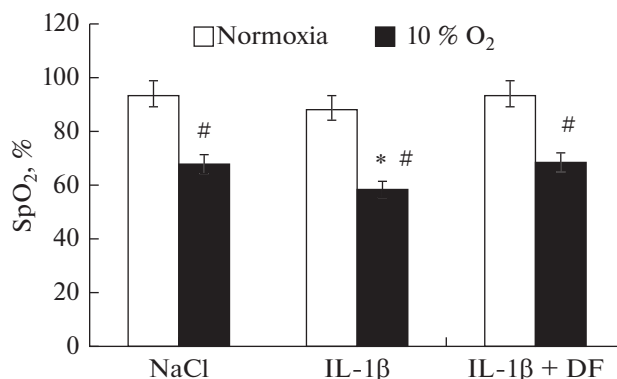


Рис. 2. Снижение насыщения артериальной крови кислородом при гипоксической стимуляции ($F_{IO_2} = 10\%$) у крыс контрольной группы (NaCl), группы с повышенным уровнем IL-1 β (IL-1 β) и введением IL-1 β на фоне действия диклофенака (IL-1 β + DF). Число животных в каждой группе равно 12.

[#] $p < 0.01$ по сравнению с нормоксией; ^{*} $p < 0.05$ по сравнению с действием гипоксии в контрольной группе и в группе с предварительным введением диклофенака.

Fig. 2. Oxygen saturation at acute hypoxia ($F_{IO_2} = 10\%$) in control rats (NaCl), after administration of IL-1 β only and IL-1 β with diclofenac. Data are presented as mean \pm SEM.

[#] $p < 0.01$ compared to normoxia; ^{*} $p < 0.05$ compared with the effect of hypoxia in the control group and in the group with preliminary administration of diclofenac. At hypoxic stimulation was observed a decrease in SpO₂ in all groups of animals compared with normoxia. In group with administration of IL-1 β , a decrease in arterial blood saturation was more pronounced compared to other groups. The number of animals in each group is 12.

ского стимула. Как известно, изменение минутного объема дыхания является наиболее эффективным приспособительным механизмом, обеспечивающим адекватный транспорт кислорода в ткани [20]. Минутный объем дыхания отражает уровень вентиляции легких и является интегральным показателем, величина которого зависит от дыхательного объема и частоты дыхания. Величина дыхательного объема, в свою очередь, связана с величиной инспираторных колебаний внутригрудного давления, которые являются показателем силы сокращений инспираторных мышц. Полученные данные указывают на то, что повышение системного уровня IL-1 β ска-

Таблица 2. Параметры гипоксической резистентности у крыс контрольной группы (NaCl), после введения IL-1 β и после введения IL-1 β с диклофенаком

Table 2. The parameters of hypoxic resistance in control rats (NaCl), after administration of IL-1 β only, and IL-1 β with diclofenac

Экспериментальные группы Experimental groups	Продолжительность дыхания до апноэ, мин Appearance time of apnea, min	F_{IO_2} в точке апноэ, % F_{IO_2} at apnea point, %	Длительность апноэ, с Apnea duration, s	Выживаемость, % Survival, %
NaCl	9.2 \pm 0.8	3.4 \pm 0.9	44.2 \pm 1.5	100 \pm 2
IL-1 β	5.9 \pm 0.9 ^{*#}	8.5 \pm 0.8 ^{*#}	31.4 \pm 0.3 [*]	50 \pm 1 ^{*#}
IL-1 β + DF	8.5 \pm 0.8	3.5 \pm 0.9	35.7 \pm 1.0	100 \pm 1

^{*} $p < 0.05$ по сравнению с контрольной группой (NaCl); [#] $p < 0.05$ по сравнению с группой, которой IL-1 β вводился на фоне действия диклофенака (IL-1 β + DF). Число животных в каждой группе равно 12. Data are presented as mean \pm SEM. ^{*} $p < 0.05$ compared with control (NaCl); [#] $p < 0.05$ compared with the group, which received IL-1 β with diclofenac (IL-1 β + DF). The number of animals in each group is 12. Administration of IL-1 β reduced the respiratory duration from normoxia to apnea by 1.5 times. Respiratory arrest occurred in a lesser degree of hypoxia. The duration time of apnea tended to decrease compared to other groups, however spontaneous respiration recovery was observed only in 50% of the animals.)

зывается в основном на объемном компоненте вентиляционной реакции на гипоксию. При этом наблюдается выраженное подавляющее влияние IL-1 β на увеличение силы сокращений дыхательных мышц, а соответственно и на прирост дыхательного объема при гипоксическом воздействии. В экспериментальной группе с введением IL-1 β снижение O₂ в дыхательной смеси до 10% вызывало увеличение дыхательного объема только на 35 \pm 8%, а инспираторных колебаний внутригрудного давления на 20 \pm 8%, тогда как в контрольной группе величина этих параметров возрастала на 140 \pm 13% и на 170 \pm 23% соответственно (рис. 1).

Непосредственные причины артериальной гипоксемии могут быть множественными [21]. Это и гиповентиляция, и уменьшение содержания кислорода во вдыхаемом газе, и шунтирование крови в легких, и нарушение диффузионной способности легких. В нашем исследовании причиной артериальной гипоксемии в контрольной группе животных было постепенное снижение содержания кислорода в дыхательной газовой смеси, вызванное возвратным дыханием. Усиление же степени гипоксемии при повышенном уровне IL-1 β имело другую причину и было связано с гиповентиляцией. Снижение вентиляционного ответа на гипоксический стимул при повышении системного уровня IL-1 β , обнаруженное в данном исследовании, дополняет и подтверждает результаты, полученные нами в других экспериментальных условиях [17, 18].

Анализируя полученный материал, прежде всего, следует учитывать, что прирост легочной вентиляции в ответ на гипоксическую стимуляцию является рефлекторной реакцией, опосредуемой синокаротидными и аортальными хеморецепторами [22, 23]. Это позволяет предполагать, что ослабление компенсаторного роста вентиляции могло быть обусловлено изменением функционального состояния периферических хеморецепторов, вызванным действием IL-1 β . Тем более, что в ряде исследований было установлено, что основные провоспалительные цитокины (IL-1 β , TNF- α , IL-6) и их рецепторы экспрессируются в гломусных клетках каротидного тела, выполняющего хеморецепторную функцию [22, 23]. Однако, стимулируя гломусные клетки и увеличивая фоновую активность каротидного синусного нерва, цитокины в то же самое время снижают его хемочувствительность [10, 11, 22]. Этот механизм действия провоспалительных цитокинов может лежать в основе обнаруженного нами снижения эффективности вентиляторной реакции на острую гипоксию при увеличении системного уровня IL-1 β . Кроме того, уменьшение силы сокращений дыхательных мышц, выявленное в проведенном исследовании, приводящее к снижению гипоксического прироста вентиляции, могло быть вызвано влиянием IL-1 β на медуллярные инспираторные нейроны и ослаблением центральной инспираторной активности. Рецепторы IL-1 β обнаружены на многих клеточных элементах мозга: нейронах, микроглии, астроцитах, эндотелиальных клетках церебральных сосудов [9, 10]. Значительное количество функционально активных рецепторов основных провоспалительных цитокинов IL-1 β и ФНО- α обнаружено в ядре одиночного тракта (NTS), в области которого расположена дорсальная респираторная группа нейронов дыхательного центра [8, 12]. Хотя молекулы цитокинов являются достаточно крупными гидрофильными полипептидами, которые не могут легко проходить через гематоэнцефалический барьер, тем не менее, они могут оказывать центральный эффект даже при периферическом введении. Центральный респираторный эффект при системном действии интерлейкина может реализовываться через посредство вторичных мессенджеров, например, простагландинов, которые в большом количестве экспрессируются клетками эндотелия мозговых сосудов при активации имеющихся здесь рецепторов IL-1 β [24–26]. В отличие от цитокинов, простагландины являются более мелкими молекулами, которые могут легко проходить через плазмолемму и гематоэнцефалический барьер и оказывать действие на клетки ЦНС. Рецепторы PGE₂, такие как EP3R, интенсивно

экспрессируются в связанных с дыханием областях ствола мозга [27, 28]. Кроме того, простагландины могут опосредовать действие воспалительных цитокинов и на периферическую хеморецепцию, участвуя в модуляции активности каротидных тел. Установлено, что гломусные клетки продуцируют PGE2 и цитокины воспаления (IL-1 β , IL-6, TNF- α) с соответствующими рецепторами. Эти факторы модулируют возбудимость гломусных клеток, высвобождение катехоламинов и разряды хеморецепторов [29]. Было показано, что применение противовоспалительных препаратов (ибупрофена или дексаметазона) блокировало инвазию иммунных клеток, значительно уменьшало индуцированную гипоксией экспрессию цитокинов в области каротидного синуса и восстанавливало хемосенсорную чувствительность [30].

Как известно, простагландины продуцируются последовательным действием изоформ циклооксигеназы (COX-1 и COX-2), которые метаболизируют арахидоновую кислоту [31]. В этом исследовании мы показали, что ингибирование циклооксигеназных путей, угнетающее синтез простагландинов, ослабляет влияние IL-1 β на прирост легочной вентиляции при действии острой гипоксии. Так, если при действии IL-1 β минутный объем дыхания при снижении кислорода в дыхательной смеси до 10% возрастал только на 7% по сравнению с контролем, то при сочетанном действии IL-1 β с диклофенаком отмечалось восстановление прироста минутного объема дыхания при таком же гипоксическом воздействии до 42% от контроля. Кроме того, наши предыдущие исследования показали участие циклооксигеназных путей в реализации влияний повышенного церебрального уровня IL-1 β на гипоксическую хеморецепцию [18]. Представленные нами данные подтверждают мнение о том, что простагландины участвуют в респираторных эффектах циркулирующего IL-1 β .

Представленные в статье данные указывают также на то, что повышение системного уровня IL-1 β ускоряет остановку дыхания, вызванную острым гипоксическим воздействием. Апноэ возникает при меньшем уровне гипоксической стимуляции и заканчивается летальным исходом у всех животных данной экспериментальной группы. Предварительное ингибирование циклооксигеназной активности удлиняет временной период до возникновения апноэ и восстанавливает процент выживаемости при действии IL-1 β до контрольного уровня (50%). Полученные данные соответствуют результатам экспериментальных исследований, направленных на изучение синдрома внезапной детской смерти, который наблюдается у недоношенных младенцев с воспалительными заболеваниями [16, 32, 33]. Однако эти исследования проводились на новорожденных животных, у которых еще не в полной мере развиты центральные механизмы регуляции дыхания, к тому же использовалось аноксическое воздействие (вдыхание азота). Постепенно нарастающее гипоксическое воздействие, которое применялось в нашей работе, выполненной на взрослых животных, в большей степени соответствует патогенезу острой дыхательной недостаточности. На основании полученных данных мы предполагаем, что развитие гиперцитокинемии, так называемый “цитокиновый шторм”, может стать одной из существенных причин развития критических состояний, приводящих к летальному исходу вследствие остановки дыхания. Активация циклооксигеназных путей при действии провоспалительных цитокинов может быть одним из основных механизмов, опосредующих их влияние на респираторную функцию и резистентность к нарастающей гипоксии.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных научных исследований государственных академий на 2013–2020 гг. (ГП-14, раздел 65.2).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Сосин Д.В., Шалаева О.В., Евсеев А.В., Шабанов П.Д.* Механизмы формирования острой экзогенной гипоксии и возможности ее фармакологической коррекции антигипоксантами. *Обзоры по клин. фармакол. и лекарств. терапии.* 13(1): 3–24. 2015. [*Sosin D.V., Shalaeva O.V., Evseev A.V., Shabanov P.D.* The mechanisms of formation of acute exogenous hypoxia and the possibility of its pharmacological correction with antihypoxants. *Clin. Pharmacol. and drug therapy rev.* 13(1): 3–24. 2015. (In Russ)].
2. *Благинин А.А., Жильцова И.И., Михеева Г.Ф.* Гипоксическая тренировка как метод коррекции пограничных функциональных состояний организма операторов сложных эргатических систем. *Нижевартовск. Изд. Нижеварт. гос. ун-та.* 2015. [*Blaginin A.A., Zhil'cova I.I., Miheeva G.F.* Hypoxic training as a method of correction of borderline functional states of the organism of operators of complex ergatic systems]. *Nizhnevartovsk. Nizhnevart. state university.* 2015. (In Russ)].
3. *Rispen L., Marks D., Green S.* Dynamic ventilatory responses of females and males to acute isocapnic and poikilocapnic hypoxia. *Respir. Physiol. Neurobiol.* 245: 57–64. 2017.
4. *Berger M.M., Grocott M.P.* Facing acute hypoxia: from the mountains to critical care medicine. *Br. J. Anaesth.* 118(3): 283–286. 2017.
5. *Колчинская А.З., Цыганова Т.Н., Остапенко Л.А.* Нормобарическая интервальная гипоксическая тренировка в медицине и спорте. *М. Медицина.* 2003. [*Kolchinskaya A.Z., Cyganova T.N., Ostapenko L.A.* Normobaric interval hypoxic training in medicine and sports. *Moskow. Medicine.* 2003. (In Russ)].
6. *Кривошеков С.Г., Диверт Г.М., Диверт В.Э.* Регуляция внешнего дыхания и газообмен организма при 20-дневном воздействии сеансами прерывистой нормобарической гипоксии. *Физиология человека.* 30(3): 88–94. 2004. [*Krivoshchekov S.G., Divert G.M., Divert V.E.* Regulation of external respiration and gas exchange of the body during 20-day exposure to sessions of intermittent normobaric hypoxia. *Human Physiol.* 30(3): 88–94. 2004. (In Russ)].
7. *Симбирцев А.С., Тотолян А.А.* Цитокины в лабораторной диагностике. *Инфекционные болезни: Новости. Мнения. Обучение.* 2(11): 82–98. 2015. [*Simbircev A.S., Totolyan A.A.* Cytokines in laboratory diagnosis. *Infectious diseases: news, views, education.* 2(11): 82–98. 2015. (In Russ)].
8. *Hocker A.D., Stokes A.J., Powell F.L., Huxtable A.G.* The impact of inflammation on respiratory plasticity. *Exp. Neurol.* (287): 243–253. 2017.
9. *Probert L.* TNF and its receptors in the CNS: The essential, the desirable and the deleterious effects. *Neurosci.* 302: 2–22. 2015.
10. *Lampron A., Elali A., Rivest S.* Innate immunity in the CNS: redefining the relationship between the CNS and Its environment. *Neuron.* 78(2): 214–232. 2013.
11. *Hofstetter A.O., Herlenius E.* Interleukin-1 β depresses hypoxic gasping and autoresuscitation in neonatal DBA/11acJ mice. *Respir. Physiol. Neurobiol.* 146: 135–146. 2005.
12. *Dantzer R., Konsman J.P., Bluthé R.M., Kelley K.W.* Neural and humoral pathways of communication from the immune system to the brain: parallel or convergent? *Auton. Neurosci.* 85: 60. 2000.
13. *Gordon F.J.* Effect of nucleus tractus solitarius lesions on fever produced by interleukin-1beta. *Auton. Neurosci.* 85: 102. 2000.
14. *Nakamori T., Morimoto A., Murakami N.* Effect of a central CRF antagonist on cardiovascular and thermoregulatory responses induced by stress or IL-1 β . *Am. J. Physiol.* 265(4): 834–839. 1993.
15. *Watanabe T., Tan N., Saiki Y., Makisumi T., Nakamura S.* Possible involvement of glucocorticoids in the modulation of interleukin-1-induced cardiovascular responses in rats. *J. Physiol.* 491(1): 231–239. 1996.
16. *Herlenius E.* An inflammatory pathway to apnea and autonomic dysregulation. *Respir. Physiol. Neurobiol.* 178(3): 449–457. 2011.
17. *Aleksandrova N.P., Danilova G.A., Aleksandrov V.G.* Cyclooxygenase pathway in modulation of the ventilator response to hypercapnia by interleukin-1 β in rats. *Respir. Physiol. Neurobiol.* (209): 85–90. 2015.
18. *Aleksandrova N.P., Danilova G.A., Aleksandrov V.G.* Interleukin-1 beta suppresses the ventilatory hypoxic response in rats via prostaglandin-dependent pathways. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 95(6): 681–685. 2017.
19. *Донина Ж.А., Баранова Е.В., Александрова Н.П.* Ингибирование гиперпродукции оксида азота в условиях прогрессивно нарастающей гипоксии на фоне действия ИЛ-1 β снижает выживаемость крыс после острой гипоксии. *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова.* 105(12): 1514–1525. 2019. [*Donina Zh. A., Baranova E.V., Alexandrova N.P.* Inhibition of the hyperproduction of nitric oxide during progressively increasing hypoxia under the action of IL-1 β reduces the survival of rats after acute hypoxia. *Russ. J. Physiol.* 105(12): 1514–1525. 2019. (In Russ)].

20. *Gonzalez N., Kuwahira I.* Systemic oxygen transport with rest, exercise, and hypoxia: A Comparison of humans, rats, and mice. *Compar. Physiol.* 8(4): 1537–1573. 2018.
21. *Шустов С.Б., Куренкова И.Г., Харитонов М.А., Асямов К.В.* Нарушения функции внешнего дыхания при различных формах легочной патологии. *Пульмонология.* 27(3): 410–418. 2017. [*Shustov S.B., Kurenkova I.G., Kharitonov M.A., Asyamov K.V.* Lung function abnormalities in different respiratory diseases. *Pulmonology.* 27(3): 410–418. 2017. (In Russ)].
22. *Gauda E., Shirahata M., Mason A., Pichard L., Kostuk E., Chavez-Valdez R.* Inflammation in the carotid body during development and its contribution to apnea of prematurity. *Respir. Physiol. Neurobiol.* 185(1): 120–131. 2013.
23. *Lopez-Barneo J., Ortega-Saenz P., Gonzalez-Rodriguez P., Fernandez-Aguera M.C., Macias D., Pardal R., Gao I.* Oxygen-sensing by arterial chemoreceptors: Mechanisms and medical translation. *Mol. Aspects Med.* 47–48: 90–108. 2016.
24. *Ericsson A., Liu C., Hart R., Sawchenko P.E.* Type 1 interleukin-1 receptor in the rat brain: distribution, regulation, and relationship to sites of IL-1-induced cellular activation. *J. Comp. Neurol.* 361(4): 681–698. 1995.
25. *Nadeau S., Rivest S.* Effects of circulating tumor necrosis factor on the neuronal activity and expression of the genes encoding the tumor necrosis factor receptors (p55 and p75) in the rat brain: a view from the blood-brain barrier. *Neurosci.* 93(4): 1449–1464. 1999.
26. *Wong M.L., Bongiorno P.B., Gold P.W., Licinio J.* Localization of interleukin-1 beta converting enzyme mRNA in rat brain vasculature: evidence that the genes encoding the interleukin-1 system are constitutively expressed in brain blood vessels. *Pathophysiol. Implications, Neuroimmunomodulation.* 2(3): 141–148. 1995.
27. *Ek M., Arias C., Sawchenko P., Ericsson-Dahlstrand A.* Distribution of the EP3 prostaglandin E (2) receptor subtype in the rat brain: relationship to sites of interleukin-1-induced cellular responsiveness. *J. Comp. Neurol.* 428(1): 5–20. 2000.
28. *Nakamura K., Kaneko T., Yamashita Y., Hasegawa H., Katoh H., Negishi M.* Immunohistochemical localization of prostaglandin EP3 receptor in the rat nervous system. *J. Comp. Neurol.* 421(4): 543–569. 2000.
29. *Porzionato A., Macchi V., De Caro R., Di Giulio C.* Inflammatory and immunomodulatory mechanisms in the carotid body. *Respir. Physiol. Neurobiol.* 187(1): 31–40. 2013.
30. *Popa D., Fu Z., Go A., Powell F.* Ibuprofen blocks time-dependent increase in hypoxic ventilation in rats. *Respir. Physiol. Neurobiol.* 178(3): 381–386. 2011.
31. *Каратеев А.Е., Алейникова Т.Л.* Эйкозаноиды и воспаление. Современная ревматология. 10(4): 73–86. 2016. [*Karateev A.E., Aleinikova T.L.* Eicosanoids and inflammation. *Modern Rheumatol. J.* 10(4): 73–86. 2016. (In Russ)].
32. *Hofstetter A., Saha S., Siljehav V., Jakobsson P.-J., Herlenius E.* The induced prostaglandin E-2 pathway is a key regulator of the respiratory response to infection and hypoxia in neonates. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 104(23): 9894–9899. 2007.
33. *Olsson A., Kayhan G., Lagercrantz H., Herlenius E.* IL-1 beta depresses respiration and anoxic survival via a prostaglandin-dependent pathway in neonatal rats. *Pediatr. Res.* 54(3): 326–331. 2003.

Influence of Inhibition of Cyclooxygenase Pathways on Hypoxic Resistance in Rats with Increased Levels of Interleukin-1 β

Zh. A. Donina^{a,*}, E. V. Baranova^a, and N. P. Aleksandrova^a

^a*Pavlov Institute of Physiology Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia*

^{*}*e-mail: zdonina@mail.ru*

One of the current problems of the physiology and medicine is the investigation of the influence of hypercytokinemia, which develops in acute viral and bacterial infections, on the development of respiratory failure and the body's resistance to rapidly increasing hypoxia. The aim of this study was to identify the involvement of cyclooxygenase pathways in the hypoxic respiratory responses and resistance to increasing hypoxia in an increased systemic level of a key inflammatory mediator interleukin-1 beta (IL-1 β). The study was carried out on 4 groups of anesthetized Wistar rats ($n = 48$) with intravenous injection: saline (control), non-selective cyclooxygenase inhibitor diclofenac (1.5 mg/kg), IL-1 β (500 ng in 1 ml 0.9% NaCl) and the combined administration of diclofenac and IL-1 β . All groups of animals were exposed to increasing hypoxia, which was created by the "rebreathing" method. The duration of hypoxic exposure was several minutes: from normoxia to respiratory arrest (apnea). The obtained results showed that an increase in

the systemic level of IL-1 β exacerbates the effect of acute rapidly increasing hypoxia, causing a more significant decrease in the oxygen saturation in arterial blood associated with a sharp decrease in the increment in the hypoxic ventilatory response. There is a pronounced suppressive effect of IL-1 β on an increase in inspiratory fluctuations of intrathoracic pressure and on an increase the tidal volume increment during hypoxic exposure. In addition, an increase in the systemic level of IL-1 β accelerates respiratory arrest caused by acute hypoxia. Apnea occurs at a lower level of hypoxic stimulation and is fatal in all animals of this experimental group. Preliminary inhibition of cyclooxygenase activity by diclofenac reduces the inhibitory effect of IL-1 β on the hypoxic ventilatory response, increases the level of arterial blood oxygenation to control values and increases survival in the posthypoxic period. It is concluded that the activation of cyclooxygenase pathways under the action of proinflammatory cytokines may be one of the main mechanisms mediating their effect on respiratory function and resistance to increasing hypoxia.

Keywords: interleukin-1 β , respiratory system, hypoxemia, prostaglandins, apnea

ЦИТИРОВАТЬ:

Донина Ж.А., Баранова Е.В., Александрова Н.П. Влияние ингибирования циклооксигеназных путей на резистентность к нарастающей гипоксии у крыс с повышенным уровнем интерлейкина-1 бета. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 106(11): 1400–1411.

DOI:10.31857/S0869813920110047

TO CITE THIS ARTICLE:

Donina Zh.A., Baranova E.V., Aleksandrova N.P. Influence of Inhibition of Cyclooxygenase Pathways on Hypoxic Resistance in Rats with Increased Levels of Interleukin-1 β . Russian Journal of Physiology. 106(11): 1400–1411.

DOI:10.31857/S0869813920110047