

УДК 612.217+612.766

## **ВЛИЯНИЕ ИНТЕРЛЕЙКИНА-1 НА ПАТТЕРН ДЫХАНИЯ И ИНСПИРАТОРНО-ТОРМОЗЯЩИЙ РЕФЛЕКС ГЕРИНГА-БРЕЙЕРА**

**Н.П. Александрова<sup>1</sup>, В.А. Меркурьев<sup>2</sup>, В.Г. Александров<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт Петербург

<sup>2</sup>Российский государственный университет физической культуры,  
спорта, молодежи и туризма, Москва

<sup>3</sup>Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена,  
Санкт Петербург

В экспериментах на наркотизированных крысах исследовалось влияние основного провоспалительного цитокина интерлейкина-1 $\beta$  (ИЛ-1 $\beta$ ) на функцию внешнего дыхания. Установлено, что повышение содержания ИЛ-1 $\beta$  в плазме крови вызывает усиление легочной вентиляции, связанное с учащением дыхания и увеличением общего инспираторного усилия и соответствующим ростом дыхательного объема. Показано, что провоспалительные цитокины могут участвовать в вагально опосредованном контроле дыхания, посредством модуляции инспираторно-тормозящего рефлекса Геринга-Брейера, обеспечивающего вагально-зависимую объёмную обратную связь в системе управления дыханием.

**Ключевые слова:** цитокины, интерлейкин-1 $\beta$ , внешнее дыхание, рефлекс Геринга-Брейера.

**Введение.** Одним из современных направлений в области физиологии висцеральных систем является изучение роли цитокинов, нового класса эндогенных полипептидных медиаторов, в механизмах регуляции вегетативных функций организма. В настоящее время цитокины выделяются в новую самостоятельную систему регуляции физиологических функций, тесно связанную с нервной и эндокринной системами регуляции [3]. Установлено, что важнейшим медиатором нейроиммунных взаимодействий, способным оказывать влияние на структуры ЦНС, а также увеличивать вагальную афферентную активность, является ИЛ-1 $\beta$ , основной провоспалительный цитокин. Системный уровень ИЛ-1 $\beta$  резко возрастает у больных с хроническими обструктивными заболеваниями легких, синдромом сонного апноэ, а также у здоровых людей при длительном дыхании с добавочным инспираторным сопротивлением [1]. Эти данные позволяют предположить участие ИЛ-1 $\beta$  в механизмах регуляции дыхания.

В наших предыдущих исследованиях было показано, что увеличение церебрального уровня ИЛ-1 $\beta$  влияет на паттерн дыхания и

хеморецепторные механизмы регуляции дыхания, вызывая изменение вентиляторной чувствительности к гиперкапнии [2; 4]. Цель данной работы состояла в изучении влияния повышенного уровня ИЛ-1 $\beta$  на механорецепторные механизмы регуляции, опосредуемые рефлексом Геринга-Брейера, который обеспечивает реализацию объёмно-зависимой обратной связи в системе дыхания.

**Материал и методика.** Эксперименты проводились на 12 трахеостомированных спонтанно дышащих крысах линии Wistar (самцы, весом 250-300г.), наркотизированных внутривенным введением уретана из расчета 1250 мг/кг.

Для регистрации объёмно-временных параметров внешнего дыхания использовался метод пневмотахографии. Миниатюрная пневмометрическая трубка MLT-1L (ADInstruments, Австралия), обеспечивающая ламинарность проходящего сквозь неё воздушного потока и линейность измерений у мелких лабораторных животных, подсоединялась к трахеостомической канюле. По пневмотахограмме измерялись длительность вдоха и выдоха, максимальная скорость воздушного потока, рассчитывалась частота дыхания. Для измерения дыхательного объёма производилось интегрирование пневмотахографической кривой.

Для регистрации инспираторных колебаний внутригрудного давления (ВГД) катетер, с латексным баллоном, заполненным воздухом вводился через рот в пищевод и фиксировался в его нижней трети. Катетер соединялся с полупроводниковым преобразователем давления.

Сигналы пневмотахограммы и внутригрудного давления оцифровывались и сохранялись на твёрдом диске персонального компьютера при помощи аппаратно-программного комплекса, созданного на основе устройства сбора биологических данных Biograf-7 (ГУАП, Санкт-Петербург, Россия).

В качестве функциональной пробы, позволяющей оценить выраженность инспираторно-тормозящего рефлекса Геринга-Брейера, использовался метод конечно-экспираторной окклюзии: дыхательные пути перекрывались в конце выдоха на уровне функциональной остаточной емкости легких, когда рецепторы растяжения легких практически не активны (так называемая функциональная ваготомия). Чем сильнее выражен инспираторно-тормозящий рефлекс, тем в большей степени изменяются параметры вдоха после окклюзии. Для количественной оценки выраженности инспираторно-тормозящего рефлекса длительность первого постокклюзионного вдоха, т.е. продолжительность инспираторного колебания внутригрудного давления сразу после окклюзии, выражалась в процентах к длительности последнего предокклюзионного вдоха. Кратковременные окклюзии дыхательных путей (продолжительность не более 2-х дыхательных циклов) производилась до и после системного введения

ИЛ-1 $\beta$  или физиологического раствора (контрольные эксперименты).

Беталейкин, рекомбинантный препарат человеческого интерлейкина-1 $\beta$ , вводился системно, в яремную вену, в количестве 500 нг растворенных в 1 мл физиологического раствора. При выполнении контрольных экспериментов в таком же объеме вводился физиологический раствор не содержащий ИЛ-1 $\beta$ .

Статистическая обработка данных проводилась программными средствами с использованием статистического пакета STATISTICA for Windows и Microsoft Excel. Вычислялась средняя величина регистрируемых параметров и ошибка средней. Для выявления достоверности различий использовался однофакторный дисперсионный анализ. Различия считались достоверными при  $P < 0,05$ .

**Результаты и обсуждение.** Объемно-временные параметры дыхания, зарегистрированные у наркотизированных крыс до введения ИЛ-1 $\beta$ , указаны в таблице 1.

Т а б л и ц а 1

Объемно-временные параметры дыхания  
у наркотизированных крыс до введения ИЛ-1 $\beta$

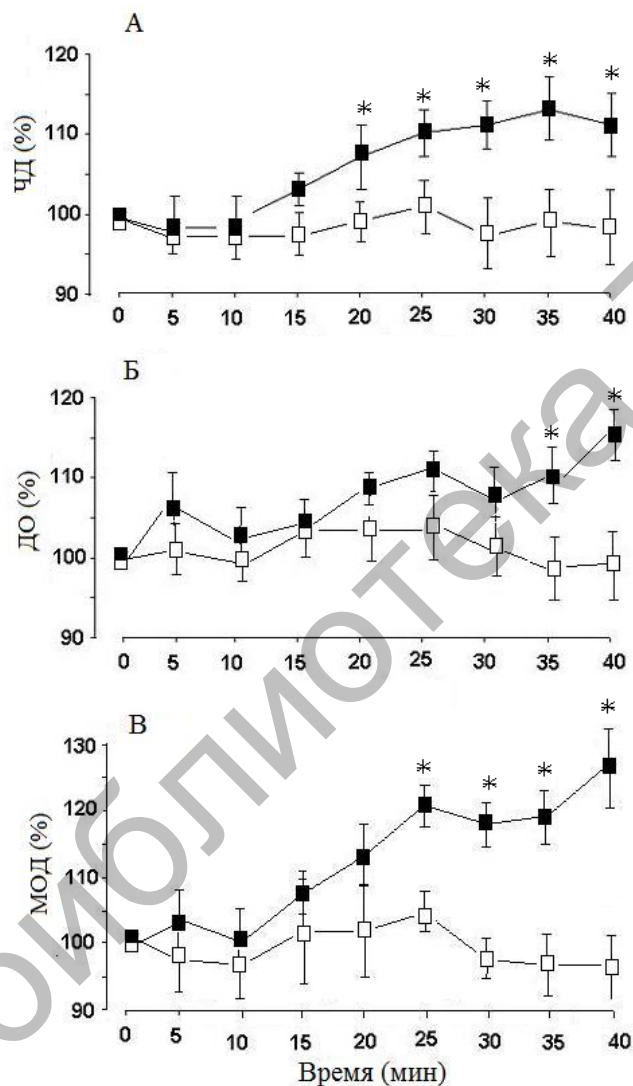
Параметр	Фоновые значения
Частота дыхания, цикл/мин	107 $\pm$ 16
Дыхательный объём, мл	2 $\pm$ 0,25
Минутный объём дыхания, мл/мин	201,4 $\pm$ 22,9
Амплитуда ВГД, мм H <sub>2</sub> O	2,43 $\pm$ 0,46

Результаты проведенного экспериментального исследования показали, что повышение системного уровня ИЛ-1 $\beta$  вызывает существенные изменения в паттерне дыхания. Так, через 15 мин после начала внутривенного введения ИЛ-1 $\beta$  наблюдалось изменение в частоте дыхания, которое становилось статически достоверным через 20 мин действия интерлейкина, превышая фоновые значения на 10 $\pm$ 3%. Рис. 1А демонстрирует достоверные различия в динамике частоты дыхания при системном введении физиологического раствора и раствора ИЛ-1 $\beta$ .

Увеличение дыхательного объема начиналось через 20 минут после введения ИЛ-1 $\beta$  и становилось статистически значимым через 35-40 минут, превышая фоновый уровень на 15 $\pm$ 6% (рис. 1Б). Контрольное введение физиологического раствора не вызывало значимых изменений в величине дыхательного объема.

Изменения дыхательного объема и частоты дыхания при внутривенном введении ИЛ-1 $\beta$  приводили к росту легочной вентиляции (рис. 1В). Достоверное увеличение минутного объема дыхания начиналось через 25 мин после начала введения ИЛ-1 $\beta$ , и через 40 мин превышало фоновый уровень на 27 $\pm$ 7%. Введение в яремную вену

физиологического раствора не вызвало увеличения минутного объема дыхания, т.к. не оказывало влияния ни на частоту, ни на глубину дыхания.



Р и с . 1. Изменение объемно-временных параметров дыхания после внутривенного введения ИЛ-1 $\beta$ : по оси ординат – изменение частоты дыхания (ЧД), дыхательного объема (ДО) и минутного объема дыхания (МОД) в процентах к фону; по оси абсцисс время действия препарата; черные квадраты – введение ИЛ-1 $\beta$ ; белые квадраты – введение физиологического раствора. Звездочкой обозначено достоверное отличие от величин, зарегистрированных в фоне и при введении физиологического раствора ( $P < 0,05$ )

Одновременно с изменениями объемно-временных параметров дыхания при внутривенном введении ИЛ-1 $\beta$  происходило усиление сокращений инспираторных мышц, что выражалось в увеличении

амплитуды инспираторных колебаний внутригрудного давления, которое становилось статистически достоверным через 20 мин после начала введения препарата, превышая фоновый уровень на  $112 \pm 5\%$ .

Тестирование инспираторно-тормозящего рефлекса до и после введения ИЛ-1 $\beta$  показало, что через 20 мин после внутривенного введения интерлейкина происходило достоверное увеличение нормированной продолжительности постокклюзионного вдоха (рис. 2). Если до введения препарата нормированная продолжительность первого постокклюзионного вдоха составляла  $170 \pm 22\%$ , то через 20 минут после введения она увеличивалась до  $223 \pm 22\%$ , а через 40 мин – уже до  $235 \pm 26\%$ . Введение физиологического раствора в контрольной серии экспериментов не вызывало достоверного изменения в нормированной длительности первого окклюзионного вдоха. Полученные данные свидетельствуют об усилении инспираторно-тормозящего рефлекса Геринга-Брейера после увеличения содержания ИЛ-1 $\beta$  в плазме крови.

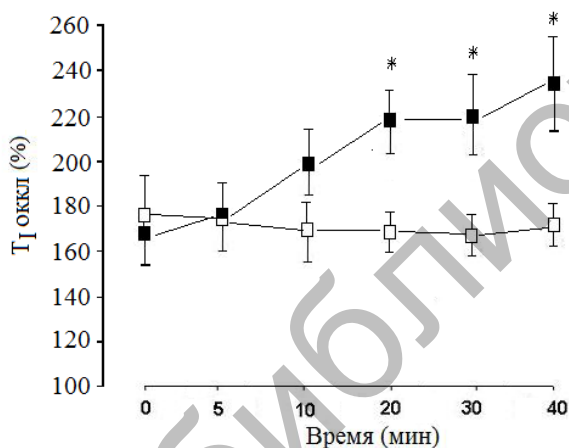


Рис. 2. Динамика силы инспираторно-тормозящего рефлекса Геринга-Брейера при системном введении ИЛ-1 $\beta$ : по оси ординат: продолжительность первого постокклюзионного вдоха в процентах от фоновых значений. Остальные обозначения как на рис. 1

Таким образом, установлено, что увеличение уровня ИЛ-1 $\beta$  в плазме крови вызывает изменение паттерна дыхания: наблюдается увеличение частоты дыхания, дыхательного объема, минутной вентиляции легких. Причиной увеличения дыхательного объема является усиление сокращений дыхательных мышц, о чем свидетельствует рост инспираторных колебаний внутригрудного давления. Увеличение частоты дыхания может быть следствием усиления инспираторно-тормозящего рефлекса Геринга-Брейера, реализация которого при активации медленно адаптирующихся

рецепторов растяжения вызывает торможение вдоха и смену дыхательных фаз.

Мы предполагаем, что обнаруженные нами респираторные эффекты ИЛ-1 $\beta$  связаны с его влиянием на центральные механизмы регуляции дыхания. Это предположение основано на способности цитокинов выполнять функцию медиаторов нейроиммунных взаимодействий в ЦНС. Участвуя в несинаптическом межклеточном взаимодействии, цитокины могут влиять на функциональное состояние нервных клеток и изменять работу различных нейронных сетей, в том числе и тех, которые контролируют функцию дыхания. Установлено, что цитокины могут взаимодействовать с различными медиаторными системами. В частности ИЛ-1 $\beta$ , как и другие провоспалительные цитокины, способен модулировать активность возбуждающих глутаматэргических механизмов в ЦНС [7]. В то же время известно, что глутамат является медиатором в синапсах, которые образованы афферентами медленноадаптирующихся механорецепторов воздухоносных путей на так называемых румр-клетках, расположенных в ядре одиночного тракта (NTS) [5; 13; 15]. Румр-клетки являются нейронами второго порядка в рефлекторной дуге инспираторно-тормозящего рефлекса Геринга-Брейера [6; 13]. Это позволяет предположить, что выявленное нами усиление инспираторно-тормозящего рефлекса под действием ИЛ-1 $\beta$  было связано с активацией глутаматэргических механизмов на бульбарном уровне.

Сравнение результатов данного исследования, в котором использовалось системное введение ИЛ-1 $\beta$  с результатами полученными нами при его церебральном введении [2] указывает на то, что гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) не препятствует проявлению респираторных эффектов ИЛ-1 $\beta$ . Цитокины, циркулирующие в кровяном русле могут оказывать свое действие на нервные клетки, проникая в ЦНС через циркумвентрикулярные области головного мозга лишенные ГЭБ. Тем более, что ГЭБ, как было недавно показано, практически отсутствует в каудально-медиальной области NTS, т.е. там, где оканчиваются терминалы афферентных волокон от механорецепторов легких и дыхательных путей [12]. Капилляры этой локальной области хорошо фенестрированы, что предоставляет цитокинам крови возможность прямого выхода в периваскулярное пространство и взаимодействия с нейронами NTS.

Кроме того, известно, что увеличение уровня циркулирующих периферических цитокинов усиливает синтез церебральных цитокинов. Поэтому циркулирующие воспалительные медиаторы могут влиять на нейроны NTS непосредственно через локальный синтез соответствующих цитокинов в клетках головного мозга [9; 11; 14]. Так, например, установлено, что интраперитонеальное введение ИЛ-1 $\beta$  увеличивает уровень матричной РНК ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$  и ИЛ-6 в ядре

одиночного тракта, в гипоталамусе, гиппокампе, в соматосенсорной и инсулярной коре [8]. К тому же при повышении уровня циркулирующих провоспалительных цитокинов (ИЛ-6, ФНО- $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$ ) происходит увеличение проницаемости ГЭБ, что делает возможным проникновение в ЦНС не только цитокинов, но и клеток, которые их продуцируют (макрофаги, моноциты, лимфоциты, нейтрофилы).

В основе обнаруженных нами центральных эффектов ИЛ-1 $\beta$  могут также лежать механизмы, связанные с индукцией посредников – вторичных мессенджеров, образование которых является результатом цитокин-рецепторного взаимодействия на сосудах или других барьерно связанных участках [10]. Роль таких посредников могут выполнять оксид азота (NO) и простагландины (PG). Они в большом количестве экспрессируются периваскулярными клетками и клетками церебрального эндотелия при активации имеющихся здесь цитокиновых рецепторов [16; 17]. Являясь небольшими растворимыми молекулами, PG и NO легко проникают через плазмолемму и гематоэнцефалический барьер. С их помощью цитокины могут влиять на функцию даже тех нейронов, которые не имеют цитокиновых рецепторов.

**Заключение.** Результаты проведенного экспериментального исследования указывают на участие иммунной системы в регуляции функции внешнего дыхания. Повышение системного уровня ИЛ-1 $\beta$  вызывает изменение как частотного, так и объемного компонента паттерна дыхания, следствием которого является увеличение вентиляции легких. Обнаруженная модуляция силы инспираторно-тормозящего рефлекса Геринга-Брейера под действием ИЛ-1 $\beta$  свидетельствует о его участии в механорецепторном контроле дыхания.

### Список литературы

1. *Александрова Н.П.* Цитокины и резистивное дыхание // Физиология человека. 2012. Т. 38, № 2. С. 119–129.
2. *Александрова Н.П., Меркурьев В.А., Данилова Г.А., Тюлина Е.В. Александров В.Г.* Изменение объемно-временных параметров внешнего дыхания при экзогенном повышении церебрального уровня интерлейкина-1 $\beta$  // Вестн. Твер. гос. ун-та. Сер. Биология и экология. 2009. Вып. 16, № 36. С. 7–11.
3. *Кетлинский С.А., Симбирцев А.С.* Цитокины. СПб: Фолиант, 2008. 550 с.
4. *Aleksandrova N.P., Danilova G.A.* Effect of intracerebroventricular injection of interleukin-1beta on the ventilatory response to hyperoxic hypercapnia // Eur. J. Med. Res. 2010. Vol. 15 (Suppl. II). P. 3–6.
5. *Bonham A.C., Coles S.K., McCrimmon D.R.* Pulmonary stretch receptor afferents activate excitatory amino acid receptors in the nucleus tractus solitarius in rats // J. Physiol. 1993. Vol. 464. P. 725–745.

6. *Bonham A.C., McCrimmon D.R.* Neurons in a discrete region of the nucleus tractus solitarius are required for the Breuer-Hering reflex in rat // *J. Physiol.* 1990. Vol. 427. P. 261–280.
7. *Chao C.C., Hu S., Ehrlich L., Peterson P.K.* Interleukin-1 and tumor necrosis factor- $\alpha$  synergistically mediate neurotoxicity: involvement of nitric oxide and of N-methyl-D-aspartate receptors // *Brain Behav. Immunol.* 1995. Vol. 9. P. 355–361.
8. *Churchill L., Taishi P., Wang M.* Brain distribution of cytokine mRNA induced by systemic administration of interleukin-1beta or tumor necrosis factor alpha // *Brain Res.* 2006. Vol. 1120, № 1. P. 64–69.
9. *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.* 2000. Vol. 85. P. 60–66.
10. *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.* 1995. Vol. 361, № 4. P. 681–691.
11. *Gordon F.J.* Effect of nucleus tractus solitarius lesions on fever produced by interleukin-1beta // *Auton. Neurosci.* 2000. Vol. 85. P. 102–111.
12. *Gross P.M., Wall K.M., Pang J.J.* Microvascular specializations promoting rapid interstitial solute dispersion in nucleus tractus solitarius // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* // 1990. Vol. 259. P. 1131.
13. *Kubin L., Alheid G.F., Zuperku E.J., McCrimmon D.R.* Central pathways of pulmonary and lower airway vagal afferents // *J. Appl. Physiol.* 2006. Vol. 101, № 2. P. 618–627.
14. *Maier S.F., Goehler L.E., Fleshner M., Watkins L.R.* The role of the vagus nerve in cytokine-to-brain communication // *Ann. NY Acad. Sci.* 1998. Vol. 840. P. 289.
15. *Miyazaki M., Tanaka I., Ezure K.* Excitatory and inhibitory synaptic inputs shape the discharge pattern of pump neurons of the nucleus tractus solitarius in the rat. *Exp Brain Res* // 1999. Vol. 129, № 2. P. 191–200.
16. *Nadeau S., Rivest S.* Effect of circulation tumor necrosis factor on the neuronal activity and expression of the genes encoding the tumor necrosis factor (p55 and p75) in the rat brain: a view from the blood-brain barrier // *Neuroscience.* 1999. Vol. 93, № 4. P. 1449–1457.
17. *Wong M.L., Bongiorno P.B., Gold P.W., Licinio J.* Localization of interleukin-1 beta converting enzyme mRNA in rat vasculature: evidence that the genes encoding the interleukin-1 system are constitutively expressed in brain blood vessels. Pathophysiological implications // *Neuroimmunomodulation.* 1995. Vol. 2, № 3. P. 141–149.



## **INFLUENCE OF INTERLEUKIN-1 ON BREATHING PATTERN AND INSPIRATORY-INHIBITORY HERING-BREUER REFLEX**

**N.P. Aleksandrova<sup>1</sup>, V.A. Merkur'ev<sup>2</sup>, V.G. Aleksandrov<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Pavlov Institute of Physiology RAS, Saint-Petersburg

<sup>2</sup>Russian State University of Physical Education, Sport, Youth, and Tourism, Moscow

<sup>3</sup>Herzen State Pedagogical University of Russia, Saint-Petersburg

In experiments on anesthetized rats, the influence of the main pro-inflammatory cytokine interleukin-1 $\beta$  (IL-1) on respiratory function was studied. It was founded that elevated levels of IL-1 $\beta$  in plasma causes an increase in pulmonary ventilation associated with shortness of breath, increasing the total inspiratory effort and a corresponding increase in tidal volume. It is shown that pro-inflammatory cytokines may be involved in vagal control of breathing mediated by modulation of inspiratory-inhibitory Hering-Breuer reflex providing vagal-dependent volume feedback in the control of respiratory system.

**Keywords:** *cytokines, interleukin-1 $\beta$ , respiration, Hering-Breuer reflex.*

### *Об авторах:*

АЛЕКСАНДРОВА Нина Павловна—доктор биологических наук, заведующий лабораторией физиологии дыхания, ФГБУ Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, 188680, Ленинградская обл., Всеволожский р-н, пос. Колтуши, ул. Быкова, д. 36, e-mail: n\_aleks@yahoo.com

МЕРКУРЬЕВ Владимир Александрович—старший преподаватель кафедры физиологии, ФГБОУ ВПО «Российский государственный университет физической культуры, спорта, молодежи и туризма», 105122, Москва, Сиреневый бульвар, д. 4, e-mail: vg\_aleks@yahoo.com

АЛЕКСАНДРОВ Вячеслав Георгиевич—доктор биологических наук, профессор кафедры анатомии и физиологии человека и животных, ФГБОУ ВПО «Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена», 191186, Санкт-Петербург, набережная р. Мойки, д.48, e-mail: vg\_aleks@yahoo.com