

© Доница Ж.А., Баранова Е.В., 2023

УДК 612.1+612.2+612.55

Доница Ж.А., Баранова Е.В.**Дозозависимая интенсивность гипоксической вентиляционной реакции в ранней фазе ЛПС-индуцированной эндотоксемии**ФГБУН «Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН»,
199034, Санкт-Петербург, Россия, наб. Макарова, д. 6

Введение. Системная воспалительная реакция, обусловленная массивным поступлением в организм грамотрицательных бактерий, выделяющих эндотоксин (липополисахарид, ЛПС) при тяжелом течении нередко осложняется острым респираторным дистресс синдромом (ОРДС) с сопутствующей гипоксемией, что является причиной высокой летальности пациентов в критических состояниях. Известно, что ЛПС вызывает комплекс реакций, характерных для острой фазы воспаления. Однако вопрос о временной точке начальных проявлений дыхательной недостаточности, направленности острофазовых реакций отдельных компонентов паттерна дыхания и оксигенации в зависимости от дозы ЛПС остается открытым. **Цель исследования** – изучение влияния низких (0,7 мг/кг) и высоких (7,0 мг/кг) доз ЛПС на интенсивность гипоксической вентиляционной реакции в раннем периоде инфекционного процесса.

Методика. Опыты проведены на 24 наркотизированных уретаном (ООО Вектон, Россия, 1000 мг/кг) крысах, гипоксическое воздействие создавали методом возвратного дыхания (от нормоксии до апноэ), с последующим анализом на уровне тяжелой гипоксии (FiO₂ 8%). С использованием пневмотахографического метода регистрировали основные показатели внешнего дыхания: частоту дыхания, дыхательный объем, минутную вентиляцию легких, сатурацию. Фиксировали выживаемость крыс после гипоксического апноэ.

Результаты. В условиях нормоксии на ранней стадии инфекционного процесса установлены разнонаправленные изменения параметров, формирующих паттерн дыхания. При тяжелой гипоксии низкая доза ЛПС вызывала угнетение легочной вентиляции, при высокой дозе, напротив, интенсивность компенсаторной вентиляционной реакции соответствовала контрольному уровню. Выживаемость животных после гипоксического апноэ имела прямую зависимость от высокой дозы ЛПС, несмотря на отсутствие дыхательной недостаточности.

Заключение. Предполагается, что при эндотоксемии экспрессия медиаторов острой фазы в сочетании с гипоксией приводит к инверсии физиологических реакций в результате диспропорциональной активации структур нейрориммунных взаимодействий, вовлеченных в периферические и центральные механизмы регуляции дыхания.

Ключевые слова: эндотоксемия; цитокины; гипоксия; вентиляционная реакция; нейрориммунные взаимодействия; регуляция дыхания

Для цитирования: Доница Ж.А., Баранова Е.В. Дозозависимая интенсивность гипоксической вентиляционной реакции в ранней фазе ЛПС-индуцированной эндотоксемии. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2023; 67(3): 88–96.

DOI: 10.25557/0031-2991.2023.03.88-96

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Доница Ж.А., Баранова Е. В; сбор и обработка материала – Баранова Е.В., Доница Ж.А.; статистическая обработка – Баранова Е.В., Доница Ж.А.; написание текста – Доница Ж.А.; редактирование – Доница Ж.А. Утверждение окончательного варианта статьи – все соавторы.

Для корреспонденции: Доница Жанна Альбертовна, e-mail: zdonina@mail.ru

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Госпрограммы 47 ГП «Научно-технологическое развитие Российской Федерации» (2019-2030), тема 0134-2019-0001.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 22.04.2022

Принята к печати 12.07.2023

Опубликована 20.09.2023

Donina Zh.A., Baranova E.V.

The dose-dependent intensity of hypoxic ventilatory response in the early phase of LPS-induced endotoxemia

I.P. Pavlov Institute of Physiology of the Russian Academy of Sciences,
Naberezhnaya Makarova 6, St. Petersburg, 199034, Russian Federation

Introduction. Systemic inflammation induced by massive administration of gram-negative bacterial endotoxin (lipopolysaccharide, LPS) is often complicated by acute respiratory distress syndrome (ARDS) with concomitant hypoxemia, which causes high mortality of critically ill patients. LPS is known to induce a reaction complex characteristic of the acute phase of inflammation, depending on the dose and time of exposure. However, the dependence of timing of initial manifestations of respiratory insufficiency, direction of acute-phase reactions of individual components in the breathing pattern, and oxygenation on the LPS dose remains unstudied. **The aim** of this work was to study the effects of low (0.7 mg/kg) and high (7.0 mg/kg) LPS doses on the intensity of hypoxic ventilatory response in the early period of infectious process.

Methods. Experiments were conducted on 24 rats anesthetized with urethan (OOO Vekton, Russia, 1000 mg/kg). Hypoxia was produced by the rebreathing method (from normoxia to apnea) with a subsequent analysis performed for severe hypoxia (FiO₂ 8%). Major respiratory parameters, including breathing rate, tidal volume, minute ventilation, and saturation were recorded with a pneumotachograph. Survival rate was studied after hypoxic apnea.

Results. During normoxia at the early stage of infectious process, multidirectional changes in breathing pattern parameters were observed. In severe hypoxia, a low LPS dose induced inhibition of the ventilatory response while with a high dose, on the contrary, the intensity of the compensatory ventilatory response was similar to the control value. Mortality after hypoxic apnea was directly related with the high dose of LPS despite the absence of respiratory failure.

Conclusion. The results suggest that in endotoxemia, the expression of acute phase mediators in combination with hypoxia results in the inversion of physiological reactions due to disproportional activation of the neuroimmune interaction components involved in peripheral and central mechanisms of respiratory control.

Keywords: endotoxemia; cytokines; hypoxia; ventilatory response; neuroimmune interactions; respiratory control

For citation: Donina Zh.A., Baranova E.V. The dose-dependent intensity of hypoxic ventilatory response in the early phase of LPS-induced endotoxemia. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2023; 67(3): 88–96. (in Russian)

DOI: 10.25557/0031-2991.2023.03.88-96

Author's contribution: concept and design of the study – Donina Zh.A., Baranova E.V.; collection and processing of material – Baranova E.V., Donina Zh.A.; statistical processing – Baranova E.V., Donina Zh.A.; writing the text – Donina Zh.A.; editing – Donina Zh.A. Approval of the final version of the article – all authors.

For correspondence: Zhanna A. Donina, Doctor of Biol. Sciences, Ved. scientific associate, lab. physiology of breathing, I.P. Pavlov Institute of Physiology the Russian Academy of Sciences, e-mail: zdonina@mail.ru

Information about the authors:

Donina Zh.A., <https://orcid.org/0000-0002-4451-1270>

Baranova E.V., <https://orcid.org/0000-0003-1234-4575>

Financing. The work was carried out with the support of the State Program 47 GP «Scientific and technological development of the Russian Federation» (2019-2030), topic 0134-2019-0001.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 22.04.2023

Accepted 12.07.2023

Published 20.09.2023

Введение

Системная воспалительная реакция, обусловленная массивным поступлением в организм грамотрицательных бактерий, выделяющих эндотоксин (липолисахарид, ЛПС) при тяжелом течении осложняется бактериальным сепсисом, септическим шоком, что является причиной высокой смертности пациентов в критическом состоянии [1–3].

Патогенез этого патологического состояния до конца не изучен, однако, установлено, что ключевую роль в развитии воспалительного процесса и сепсиса играет взаимодействие ЛПС с липидным компонентом клеточных мембран и инициирование каскадных реакций последовательных молекулярно-клеточных механизмов, вызывающих неконтро-

лируемую продукцию провоспалительных цитокинов (ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8 и др.), активизацию ферментов, образующих монооксид азота (NO) и простагландинов (PGE1 и PGE2) [4-6]. Усиленный выброс цитокинов («цитокиновый шторм») ассоциируется с развитием синдрома полиорганной недостаточности, где одним из ведущих компонентов является острая дыхательная недостаточность – острый респираторный дистресс синдром (ОРДС).

Имеется достаточно данных о том, что развитие септической реакции сопутствует развивающаяся в этих условиях гипоксия, усугубляющая ЛПС-вызванный воспалительный эффект [7, 8]. Нарастающая дыхательная недостаточность обусловлена пневмонией, диффузным повреждением альвеоло-капиллярной стенки и легочной ткани, ухудшением вентиляционно-перфузионных отношений в легких, гипоксемией и гиперкапнией, изменением кислородсвязывающих свойств крови, повышением всех компонентов сопротивления дыхательных путей и др. [9-12]. Прогрессирование воспалительного процесса в сочетании с гипоксемией повышает риск необратимых нарушений респираторной системы, вызывает апноэ и ослабляет способность к аутореанимации (выживание) после острой аноксии [8, 13, 14].

Считается, что ЛПС вызывает комплекс реакций, характерных для острой фазы воспаления в зависимости от дозы и времени воздействия. По данным R. Fodor и соавт. [15] прогрессивно нарастающие дозы эндотоксина коррелировали с тяжестью септических состояний, что было подтверждено клиническими проявлениями, лабораторными и гистопатологическими анализами. Результаты других исследований, напротив, показали, что малые дозы эндотоксина вызывают более тяжелые повреждения легких, чем большие дозы [16], а слабое и умеренное воспаление приводит к наибольшим нарушениям дыхания [14]. Введение низких доз ЛПС усиливали аллергическое воспаление дыхательных путей, тогда как высокая доза не вызывала повышенного образования мокроты в дыхательных путях [17].

Изучение септических реакций в большинстве экспериментальных моделей эндотоксемии преимущественно сосредоточено на отдаленных временных периодах воздействия ЛПС: 2, 4, 6, 12, 24 ч и более [18, 19], поэтому информации о ранней фазе воспаления очень мало. Вместе с тем было показано, что повышение уровня ФНО- α индуцированное влиянием ЛПС начинается уже через 30 мин после инъекции, достигая пиковых значений в течение 6 ч [20]. Кроме того, установлено, что парциальное давление кислорода, кото-

рое является мощным иммуномодулирующим сигналом снижается в альвеолярном газе сразу же после введения ЛПС и усиливает процесс воспаления в легких при ОРДС [21].

Приведенные данные, указывают на то, что проявления эндотоксин-индуцированных нарушений респираторной системы развиваются на ранней стадии воспалительного процесса и не имеют линейной зависимости от дозы ЛПС, а его вклад в отдельные компоненты острофазовой реакции до сих пор неясен. В то же время, в предыдущем исследовании нами была установлена прямая зависимость гипотензивной реакции и сатурации только в условиях нормоксии, увеличение летальности крыс после тяжелой гипоксии от увеличения дозы ЛПС [22].

Мы предположили, что неоднозначные физиологические реакции могут быть следствием нарушения баланса множественных компонентов нейроиммунных взаимодействий и их модулирующим влиянием на деятельность кардиореспираторной системы, и в том числе, на компенсаторную гипоксическую вентиляторную реакцию, эффективность которой зависит от суммарной активности периферических и центральных звеньев регуляции дыхания.

Цель работы – исследование дозозависимой интенсивности гипоксической вентиляционной реакции в ранней фазе ЛПС-индуцированной эндотоксемии.

Методика

Животные были получены из Биокolleкции Института физиологии им. И.П. Павлова РАН и содержались в лабораторных условиях при свободном доступе к воде и пище. При проведении экспериментов соблюдались требования, утвержденные Приказом Минздрава РФ от 01.04.16 г. № 199н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики» и директивами Совета Европы 2010/63EU Европейского парламента о защите животных, используемых в экспериментальных и других научных целях. Протоколы опытов были утверждены комиссией по гуманному обращению с животными Института физиологии им. И.П. Павлова РАН.

Эксперименты проведены на 24 крысах самцах Вистар массой 280-300 г наркотизированных уретаном (ООО Вектон, Россия, 1000 мг/кг) и I-й и экспериментальных групп трахеостомированных. Животные были распределены на 3 группы по 8 особей в каждой. В условиях нормоксии регистрировали фоновые значения, затем вводили изучаемые препараты в бедренную вену (*v.femoralis*): контрольной группе – 1 мл изотонического физиологического раствора (NaCl); экс-

периментальным группам: I-й (ЛПС-1) и II-й (ЛПС-2) – раствор липополисахарида *Escherchia coli* (производства НИИ ЭМ им.Гамалеи, Россия) в количестве 0,7 мг/кг и 7 мг/кг (0,2 и 2 мг на крысу) соответственно. При выборе дозировок ЛПС мы руководствовались данными литературы и нашего предыдущего исследования [22], из которых следует, что применяемые нами дозы бактериального эндотоксина обладают относительно малым и средним сублетальным эффектом.

Через 40 мин, после регистрации фоновых значений проводили гипоксическое тестирование, используя метод «возвратного дыхания» [23]. Дыхание осуществлялось из/в замкнутой емкости, гипоксия нарастала прогрессивно от нормоксии вплоть до остановки дыхания (апноэ). Непрерывно фиксировали фракционное содержание O_2 (F_1O_2), время наступления апноэ, время спонтанного возобновления дыхания и летальность в постгипоксическом периоде в процентах по отношению к контролю. Регистрацию параметров проводили на протяжении всего эксперимента, сравнительный анализ после окончания эксперимента на уровне F_1O_2 8%. Прекращение дыхательной активности в течение 1 мин приравнивали к гибели животных.

В ходе эксперимента пневмотахографическим методом регистрировали объемную скорость инспираторного потока (V_i); автоматическая интеграция кривой пневмотахограммы позволяла вычислить дыхательный объем (ДО) и частоту дыхания (ЧД), рассчитывали минутный объем дыхания (МОД). Регистрация внутригрудного давления (ВГД) – давление в пищеводе (аналог внутриплеврального) осуществлялась методом баллонографии. Оксигенацию крови ($SpO_2\%$) определяли, используя ветеринарный пульсоксиметр типа UT (Zoomed, Россия). Фракционное содержание O_2 (F_1O_2) в процессе гипоксического воздействия регистрировали кислородным анализатором ПГК-06 («Инсофт», Санкт-Петербург). Обработку сигналов пневмотахограммы и внутригрудного давления проводили с помощью аппаратно-программного комплекса сбора биологических данных Biograf-7 (ГУАП, Санкт-Петербург, Россия).

Для статистического анализа данных использовали программы Statistica 10.0 (Windows) и Microsoft Office Excel 2020. Для проверки выборки на нормальность распределения использовали тест Колмогорова-Смирнова, уровень значимости составлял $p < 0,2$, что свидетельствовало о том, что групповые выборки данных подчинялись закону нормального распределения. Затем оценивали значения до и после инъекции препаратов, используя парный критерий Стьюдента и двухфакторный дисперсионный анализ (ANOVA)

для факторов «контроль-LPS-I», «контроль-LPS-II» и «LPS-I–LPS-II. Различия принимали за статистически значимые при $p < 0,05$. Данные представлены в виде среднего значения и ошибки средней ($M \pm SE$).

Результаты

Через 30 мин после введения ЛПС в условиях нормоксии наблюдались изменения показателей внешнего дыхания у крыс I-й и II-й экспериментальных групп по сравнению с контрольными (таблица). Низкая доза ЛПС вызывала увеличение ДО на $123 \pm 14\%$ ($p < 0,05$), высокая – на $89 \pm 9\%$ ($p < 0,05$). ЧД в большей степени увеличилась у крыс II-й группы, МОД возрастал на $150 \pm 11\%$ ($p < 0,05$) независимо от дозы ЛПС. ВГД в группе с низкой дозой увеличилось на $180 \pm 14\%$, у крыс с высокой дозой на $120 \pm 10\%$ ($p < 0,05$, соответственно). Сатурация в большей степени снизилась у животных II-й группы. Наиболее выраженные межгрупповые различия в зависимости от дозы ЛПС наблюдались в сдвигах внутригрудного давления, влияние низкой дозы ЛПС вызывало более значимое увеличение ВГД. Полученные данные показали, что в нормоксических условиях введение ЛПС в различных дозах вызывало непропорциональный характер реакций показателей, формирующих паттерн дыхания, что выражалось в отсутствии прямой корреляции между дозой и эффектом. Зависимость от дозы ЛПС наблюдалась в насыщении артериальной крови кислородом – увеличение дозы сопровождалось снижением $SpO_2\%$.

Гипоксическое воздействие при F_1O_2 8% у крыс контрольных и экспериментальных групп сопровождалось изменением параметров, формирующих вентиляторную реакцию на гипоксию (рис. 1, a, b, c, d). Однако и в этом случае также не наблюдалось прямой корреляции величин показателей и дозы ЛПС. Так, приросты ВГД на гипоксическое воздействие у крыс с низкой и высокой дозой были значительно меньше по сравнению с контролем, однако межгрупповые различия не достигали статистической значимости (рис. 1, d). Обращает на себя внимание тот факт, что менее значимые по сравнению с контролем приросты ДО, МОД и снижение ЧД у крыс I-й и II-й групп зависели от дозы ЛПС, различия между группами были значимыми. При этом, как видно из рис. 1, с меньшей дозой ЛПС (0,7 мг/кг) угнеталась вентиляционную реакцию на гипоксию в более значимой степени, чем большая доза (7 мг/кг). Так прирост МОД на гипоксию по сравнению с нормоксическим дыханием у контрольных крыс с введением физиологического раствора составлял $97 \pm 12\%$, в I-й экспериментальной группе $22 \pm 3\%$, и $53 \pm 7\%$ во II-й. Компенсаторные реак-

ции параметров вентиляционной реакции на гипоксию (8%) в зависимости от дозы ЛПС представлены на рисунке 1.

При действии гипоксии 8%O₂ у всех групп животных насыщение артериальной крови кислородом оказалось значимо ниже контрольных значений при нормоксии (рис. 2). Наибольшее падение SpO₂ (до 60%) было зарегистрировано у контрольных крыс с введением физиологического раствора, в группах с малой и большой дозой ЛПС SpO₂ снижалось в меньшей степени, чем у контрольных, но не носило дозозависимого характера.

Дальнейшее нарастание гипоксии (< 8%O₂) сопровождалось остановкой дыхания (апноэ) у всех групп животных. Причем продолжительность дыхания гипоксической газовой смесью до наступления апноэ как у контрольных животных, так и с малой и высокой дозой ЛПС была примерно одинаковой, что составляло 8-9 мин, однако степень гипоксии во вдыхаемой газовой смеси

в точке апноэ была различной. Так, у контрольной группы животных апноэ наступало при F₁O₂ 3-4%, у крыс с низкой дозой ЛПС при 4-5%, с высокой – при 7-8%. Длительность остановки дыхания в группах I-я и II-я были сходны (27,0±3,1 и 26,4±2,2 с), существенное различие проявлялось в количестве случаев спонтанного восстановления дыхания (выживаемость) в постгипоксическом периоде. Число выживших крыс с малой дозой ЛПС составляло 100%, что не отличалось от контроля, а в группе с введением большей дозы возобновление дыхания происходило только в 12% случаев.

Обсуждение

Выявленные изменения параметров внешнего дыхания через 30 мин после инфузии низкой и высокой дозы ЛПС в условиях нормоксии, позволяют сделать вывод об адекватности используемой нами модели начальной фазы развивающегося сепсиса у крыс, наиболее полно соответствующей клинической ситуации

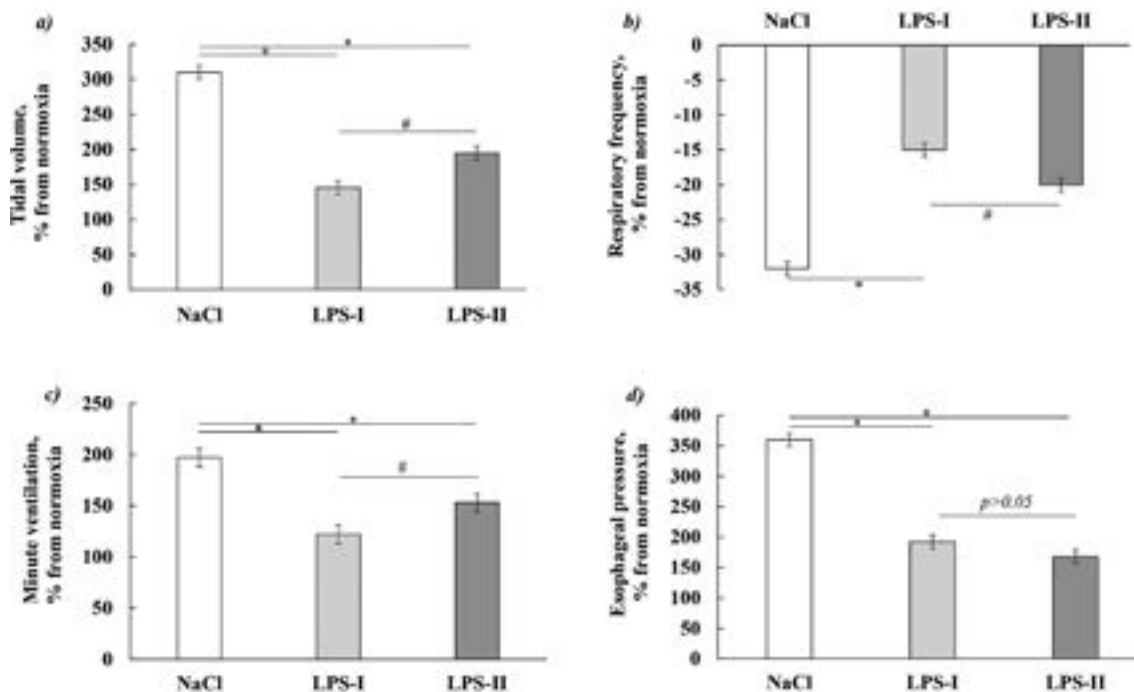


Рис. 1. Компенсаторные реакции параметров вентиляционной реакции на гипоксию (8%) в зависимости от дозы ЛПС. По оси абсцисс – экспериментальные группы: контроль (физ. р-р), ЛПС-1 (0,7 мг/кг), ЛПС-2 (7 мг/кг). По оси ординат – приросты показателей в % от нормоксии; * – *p*<0,05 по сравнению с контролем; # – *p*<0,05 по сравнению ЛПС-1 с ЛПС-2 панель а) – дыхательный объем, б) – частота дыхания, с) – минутный объем дыхания, д) – внутригрудное давление.

Fig. 1. Compensatory reactions of ventilation parameters response to hypoxia (8%) depending on the dose of LPS. On the abscissa axis – experimental groups: control (NaCl), LPS-1 (0.7 mg/kg), LPS-2 (7 mg/kg). On the ordinate axis – increases in indicators in % from normoxia. – *p*<0.05 compared to the control; # – *p*<0.05 compared between LPS-1 and LPS-2, panel a) – tidal volume, b) – respiratory frequency, c) – minute ventilation, d) – esophageal pressure.

[24, 25]. Об этом свидетельствует повышение внутригрудного давления (отражающего общее инспираторное усилие), что указывает на увеличение сопротивления дыханию, связанное с накоплением клеточных элементов и жидкости в дыхательных путях, отеком (обструкцией) бронхов, уменьшением легочных объемов и нарушением вентиляционно-перфузионных отношений в легких [11, 26, 27]. Дозозависимое снижение сатурации в ответ на введение ЛПС, свидетельствует о снижении эффективности оксигенации в условиях нормоксии (таблица). При гипоксии понижение сатурации не имело дозозависимого характера у крыс обеих экспериментальных групп, однако это падение было менее выраженным, чем у контрольных крыс с введением NaCl. Одной из причин выявленной стабилизации сатурации при септической реакции может явиться метаболический дисбаланс, приводящий к снижению потребления кислорода клетками [3, 15]. Кроме того, в ранее проведенном нами исследовании [22] инъекция аналогичных дозировок ЛПС через 40 мин вызывала гипотензивную реакцию, которая, как известно, является индикатором ранней стадии эндотоксического шока [28]. Следовательно, полученный в настоящей работе материал дает основание считать, что начальные патогенетические признаки ОРДС развиваются на ранней стадии инфекционного процесса в условиях нормоксии.

Как отмечалось ранее, важной особенностью течения эндотоксин-индуцированного патологического процесса является вызванное гипоксией усиление воспалительной реакции [29]. Отражением регуляторных

механизмов дыхательной системы, как известно, является вентиляционная реакция на действие разнообразных стимулов (гипоксия, гиперкапния, повышенное сопротивление дыханию и др.) [30]. Результаты наших опытов выявили существенное угнетение вентиляционной реакции на гипоксию у крыс с малой дозой ЛПС, тогда как у крыс с большей дозой компенсаторный прирост легочной вентиляции соответствовал контрольным значениям, что в данном случае позволяет

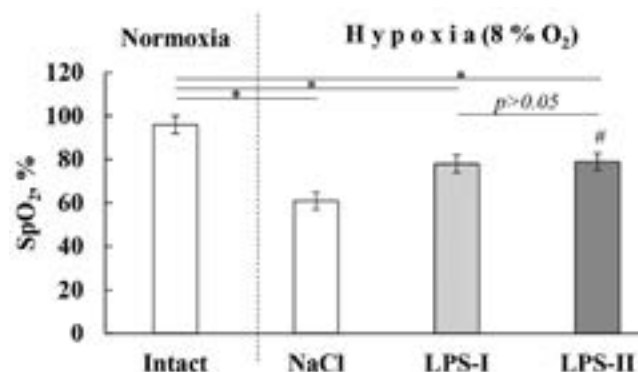


Рис. 2. Насыщение артериальной крови кислородом (SpO₂%, абсолютные значения) при гипоксии в зависимости от дозы ЛПС. По оси абсцисс – экспериментальные группы: контроль (Физ. р-р), ЛПС-1 (0,7 мг/кг), ЛПС-2 (7 мг/кг). По оси ординат – SpO₂%; – p<0,05 по сравнению с контролем; p>0,05 по сравнению ЛПС-1 с ЛПС-2.

Fig. 2. Saturation of arterial blood (SpO₂%, absolute values) in hypoxia, depending on the dose of LPS.

On the abscissa axis – experimental groups: control (NaCl), LPS-1 (0.7 mg/kg), LPS-2 (7 mg/kg). On the ordinate axis – SpO₂%. * – p<0.05 compared to the control; p>0.05 compared between LPS-1 and LPS-2.

Изменения показателей внешнего дыхания у крыс через 30 мин после введения низкой (I) и высокой дозы (II) ЛПС в условиях нормоксии (n=8 в каждой группе)

Changes in external respiration parameters in rats 30 minutes after administration of low (I) and high (II) doses of LPS under normoxic conditions (n=8 in each group)

Показатели Indicate	Контроль Control (NaCl)	ЛПС-1 LPS-I	ЛПС-2 LPS-II
Дыхательный объем, мл Tidal volume, ml	0.9±0.2	2.0±0.1*	1.7±0.2*
Частота дыхания, мин ⁻¹ Respiratory frequency, min ⁻¹	80±8	95±5	108±6*
Минутный объем дыхания, мл/мин Minute ventilation, ml/min	76±6	190±7*	187±6*
Внутригрудное давление, см вод. ст. Esophageal pressure, cm H ₂ O	0.5±0.05	1.4±0.1*	1.1±0.05*
Насыщение артериальной крови кислородом, % Saturation, %	96±1	92±1	83±6*

Примечание. * – p<0,05; по сравнению с контролем (физиологический раствор).

Note. * – p<0.05; compared with the control (NaCl).

говорить об отрицательной корреляционной связи между дозой ЛПС и интенсивностью вентиляционной реакции. Полученные данные свидетельствуют о снижении возможности возобновления дыхания и увеличении летальности после тяжелой гипоксии у крыс с высокой дозой ЛПС, несмотря на отсутствие существенных сдвигов со стороны дыхания при гипоксическом тестировании. Возможными причинами снижения выживаемости, по-видимому, является фатальное снижение артериального давления, обусловленное угнетающим влиянием ЛПС-индуцированной септической реакции на вазомоторный центр и эффективность оксигенации [22].

Рассматривая полученные результаты с позиции доза-эффект, прежде всего, следует отметить, что ФНО- α является ключевым медиатором токсичности ЛПС и одним из первых провоспалительных цитокинов, высвобождаемых макрофагами [16]. Гистологические признаки острого воспаления, вызванного ЛПС были обнаружены в каротидных телах артериальных хеморецепторов, инициирующих начальное усиление легочной вентиляции при гипоксии [30]. Было установлено, что каротидные тела экспрессируют рецептор ЛПС (TLR4), а также ФНО- α и его рецепторы (TNF-R1 и TNF-R2), повышение которых наблюдалось после введения ЛПС (Fernandes, 2008). При гипоксической стимуляции каротидных тел в опытах *in vitro* увеличение ФНО- α в дозо-зависимой степени снижало хемосенсорную активность. Авторы считают, что ФНО- α может модулировать хемосенсорную чувствительность каротидного тела в результате индукции гломусными клетками нейротрансмиттера дофамина, участвующего в регуляции иммунной функции [31, 32]. Дофамин, являясь предшественником норадреналина, оказывает стимулирующее или ингибирующее действие на различные адренергические рецепторы, в том числе и на легочное кровообращение, диаметр бронхов и вентиляцию легких. Благодаря сложным механизмам дофамин может приводить к неоднозначным последствиям в дыхательной системе — уменьшать развитие отека дыхательных путей и улучшать функцию дыхательных мышц, или угнетать легочную вентиляцию. Однако у пациентов в критическом состоянии при хронической обструктивной болезни легких негативного влияния дофамина на легочную вентиляцию не наблюдалось [32].

В настоящее время признано, что каротидные тельца, традиционно считавшиеся кислородным сенсором, обеспечивающим хеморефлекторные реакции, являются также и датчиком иммунного статуса

[33]. Имеются доказательства, что каротидные тельца модулируют кардиореспираторные взаимодействия, направленные на поддержание кислородного гомеостаза при патологических состояниях [34]. Наличие такого механизма могло явиться одной из причин снижения сатурации и ее стабилизации на одном уровне при действии двух разных доз ЛПС, несмотря на различную интенсивность гипоксической реакции легочной вентиляции, направленной на обеспечение адекватной оксигенации.

Кроме того, сложное взаимодействие про- и противовоспалительных цитокинов, огромное количество других биологически активных веществ и дополнительное влияние тяжелой гипоксии модифицирует хемосенсорную афферентацию от каротидного тельца, тем самым стимулирует или ингибирует инспираторную активность на уровне центральных структур регуляции дыхания. Как отмечает ряд авторов, ЛПС увеличивает продукцию ИЛ-1 β и ФНО- α в ядре солитарного тракта и вентролатеральном отделе продолговатого мозга, т.е. в структурах ЦНС, ответственных за регуляцию дыхания [35, 36]. Моррисон и соавт. [14] показали, что слабое и умеренное воспаление приводит к наибольшим нарушениям дыхательной функции.

При изучении молекулярных механизмов аллергической астмы (на мышах), вызванной введением ЛПС было обнаружено, что низкие дозы усиливают аллергическое воспаление дыхательных путей, вызывают значительную инфильтрацию легочной ткани мышей, повышенную секрецию слизи в дыхательных путях и повышение уровня Т-хелперов2 (Th2), тем самым нарушая биомеханику дыхания. Высокая доза ЛПС, напротив, индуцировала увеличение Th1, отсутствие слизи в дыхательных путях и увеличение продукции интерферона-гамма (IFN- γ) [17].

Таким образом, наше предположение о возможном отсутствии прямого дозозависимого влияния ЛПС на развитие дыхательной недостаточности согласуется с данными литературы, что получило экспериментальное подтверждение. Полученные результаты позволяют сделать выводы, что внедрение нарастающих доз ЛПС в нормоксических условиях, вызывает непропорциональные изменения параметров, формирующих паттерн дыхания на ранней стадии инфекционного процесса. Сочетание ЛПС-индуцированных многочисленных медиаторов воспаления и тяжелой гипоксии вносит диспропорцию в активизацию структур нейроиммунных взаимодействий, вовлеченных в периферические и центральные механизмы регуляции дыхания.

Литература

(п.п. 1-10; 12-21; 23-36 см. References)

11. Шульга Е.В., Казак М.Э., Зинчук В.В. Кислородзависимые процессы при введении липополисахарида. *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*. 2011; 2: 29-34.
22. Дони́на Ж.А., Баранова Е.В., Александрова Н.П. Влияние различных доз липополисахарида на артериальное давление и насыщение крови кислородом у крыс в условиях нарастающей нормобарической гипоксии. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2017; 103: 1193-200.

References

1. Verbon A., Dekkers P.E., Ten Hove T., Hack C.E., Pribble J.P., Turner T., et al. IC14, an anti-CD14 antibody, inhibits endotoxin-mediated symptoms and inflammatory responses in humans. *The Journal of Immunology*. 2001; 166: 3599–05.
2. Fan H., Cook J. Molecular mechanisms of endotoxin tolerance. *Journal of Endotoxin Research*. 2004; 10: 71–4.
3. Nardocci G., Martin A., Abarzua S., Rodriguez J., Simon F., Reyes E., et al. Sepsis progression to multiple organ dysfunction in carotid chemo/baro-denervated rats treated with lipopolysaccharide. *Journal of Neuroimmunology*. 2015; 278: 44–2.
4. Bhatia M., Mochhala S. (2004) Role of inflammatory mediators in the pathophysiology of acute respiratory distress syndrome. *The Journal of Pathology*. 2004; 202: 145–56.
5. Hocker A.D., Stokes A.J., Powell F.L., Huxtable A.G. The impact of inflammation on respiratory plasticity. *Experimental Neurology*. 2017; 287: 243–53.
6. Behrens E.M., Koretzky G.A. Review: Cytokine storm syndrome: Looking toward the precision medicine era. *Arthritis & Rheumatology*. 2017; 69: 1135–43.
7. Agorreta J., Garayoa M., Montuenga L., Zulueta J. Effects of acute hypoxia and lipopolysaccharide on nitric oxide synthase-2 expression on acute lung injury. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2003; 168: 287–6.
8. Vuichard D., Ganter M., Schimmer R., Suter D., Booy C., Reyes L., et al. Hypoxia aggravates lipopolysaccharide-induced lung injury. *Clinical and experimental immunology*. 2005; 141: 248–60.
9. Rubenfeld G.D., Caldwell E., Peabody E., Weaver J., Martin D., Neff M., et al. Incidence and outcomes of acute lung injury. *The new England Journal of Medicine*. 2005; 353: 1685–93.
10. Goraca A.H., Piechota A., Huk-Kolega H. Effect of alfa-lipoic acid on LPS-induced oxidative stress in the heart. *Journal of Physiology and pharmacology*. 2009; 60: 61–8.
11. Shul'ga E.V., Kazak M.E., Zinchuk V.V. Oxygen-dependent processes with the introduction of lipopolysaccharide. *Zhurnal Grodenskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta*. 2011; 2: 29-34. (In Russian)
12. Koh Y. Update in acute respiratory distress syndrome. *Journal of Intensive Care*. 2014; 2: 2–8.
13. Lorea-Hernández J.J., Morales T., Rivera-Angulo A.J., Alcántara-Gonzalez D., Pena-Ortega F. Microglia modulate respiratory rhythm generation and autoresuscitation. *Glia*. 2016; 64: 603–19.
14. Morrison N.R., Johnson S.M., Hocker A.D., Kimyon R.S., Watters J.J., Huxtable A.G. Time and dose-dependent impairment of neonatal respiratory motor activity after systemic inflammation. *Respiratory Physiology & Neurobiology*. 2020; 272: 1033–14.
15. Fodor R.S., Georgescu A.M., Cioc A.D., Grigorescu B.L., Cotoi O.V., Pal Fodor P., et al. Time and dose-dependent severity of lung injury in a rat model of sepsis. *Romanian Journal of Morphology and Embryology*. 2015; 56: 1329–37.
16. Fernandez R., Gonzalez S., Rey S., Cortes P.P., Maisey K.R., et al. Lipopolysaccharide-induced carotid body inflammation in cats: functional manifestations, histopathology and involvement of tumor necrosis factor-alpha. *Experimental Physiology*. 2008; 93: 892–7.
17. Dong L., Li H., Wang S., Li Y. Different doses of lipopolysaccharides regulate the lung inflammation of asthmatic mice via TLR4 pathway in alveolar macrophages. *Journal of Asthma*. 2009; 46: 229–3.
18. Broug-Holub E., Toews G.B., van Iwaarden J., Strieter R.M., Kunkel S.L., Paine R., et al. Alveolar macrophages are required for protective pulmonary defenses in murine Klebsiella pneumonia: elimination of alveolar macrophages increases neutrophil recruitment but decreases bacterial clearance and survival. *Infection and Immunity*. 1997; 65: 1139–46.
19. Hashimoto S., Pittet J.F., Hong K., Folkesson H., Bagby G., Kobzik L., et al. Depletion of alveolar macrophages decreases neutrophil chemotaxis to Pseudomonas airspace infections. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*. 1996; 270: 819–28.
20. Xing Z., Jordana M., Kirpalani H., Driscoll K.E., Schall T.J., Gauldie J. Cytokine expression by neutrophils and macrophages in vivo. endotoxin induces tumor necrosis factor-alpha, macrophage inflammatory protein-2, interleukin-1 beta, and interleukin-6 but not RANTES or transforming growth factor-beta 1 mRNA expression in acute lung inflammation. *American Journal of Respiratory Cell Molecular Biology*. 1994; 10: 148–53.
21. Matuschak G.M., Munoz C.F., Johanns C.A., Rahman R., Lechner A.J. Upregulation of postbacteremic TNF-alpha and IL-1alpha gene expression by alveolar hypoxia/reoxygenation in perfused rat lungs. *American Journal Respiratory and Critical Care Medicine*. 1998; 157: 629–37.
22. Donina Zh.A., Baranova E.V., Aleksandrova N.P. Influence of various doses of lipopolysaccharide on arterial blood pressure and oxygen saturation under progressive normobaric hypoxia in rats. *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal im. I.M. Sechenova*. 2021; 103: 1193–200. (In Russian)
23. Donina Zh.A., Baranova E.V., Aleksandrova N.P. A comparative assessment of effects of major mediators of acute phase response (IL-1, TNF- α , IL-6) on breathing pattern and survival rate in rats with acute progressive hypoxia. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*. 2021; 57: 936–44.
24. DeClue F., Williams K., Sharp C., Haak C., Lechner E., Reinero C. Systemic response to low-dose endotoxin infusion in cats. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 2009; 132: 167–74.
25. Kumar S., Adhikari A. Dose-dependent immunomodulating effects of endotoxin in allergic airway inflammation. *Innate Immunity* 2017; 23: 249–7.
26. Jacono F.J., Mayer C.A., Hsieh Y-H., Wilson C.G., Dick T.E. Lung and brainstem cytokine levels are associated with breathing pattern changes in a rodent model of acute lung injury. *Respiratory Physiology & Neurobiology*. 2011; 178: 429–38.
27. Nair M., Jagadeeshan S., Katselis G., Luan X., Momeni Z., Henao-Romero N., et al. Lipopolysaccharides induce a RAGE-mediated sensitization of sensory neurons and fluid hypersecretion in the upper airways. *Scientific report*. 2021; 11: 8336.
28. Lee R.P., Wang D., Lin N.T., Chen H.I. Physiological and chemical indicators for early and late stages of sepsis in conscious rats. *Journal of Biomedical Science*. 2002; 9: 613–21.

29. Madjdpour C., Jewell U.R., Kneller S., Ziegler U., Schwendener R., Booy C., et al. Decreased alveolar oxygen induces lung inflammation. *Lung cellular and molecular physiology*. 2003; 284: 360–67.
30. Teppema L.J., Dahan A. The ventilatory response to hypoxia in mammals: mechanisms, measurement, and analysis. *Physiological Reviews*. 2010; 90: 675–54. <https://doi.org/10.1152/physrev.00012.2009>
31. Ciarka A., Vincent J.L., van de Borne P. The effects of dopamine on the respiratory system: friend or foe? *Pulmonary pharmacology & therapeutics*. 2007; 20: 607–15.
32. Matt S., Gaskill P. Where is dopamine and how do immune cells see it? Dopamine-mediated immune cell function in health and disease. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*. 2020; 15: 114–64.
33. Zapata P., Larrain C., Reyes P., Fernandez R. Immunosensory signalling by carotid body chemoreceptors. *Respiratory Physiology & Neurobiology*. 2011; 178: 370–4.
34. Del Rio R., Moya E.A., Parga M.J., Madrid C., Itturiga R. Carotid body inflammation and cardiorespiratory alterations in intermittent hypoxia. *European Respiratory Journal*. 2012; 39: 1492-00.
35. Probert L. TNF and its receptors in the CNS: The essential, the desirable and the deleterious effects. *Neuroscience*. 2015; 302: 2–22.
36. Yee-Hsee H., Litvin D.G., Abigail R.Z., Nethery D.E., Thomas E.D., Jacono F.J. Brainstem inflammation modulates the ventilatory pattern and its variability after acute lung injury in rodents. *Journal of Physiology*. 2020; 598: 2791 –801.

Сведения об авторах:

Допина Жанна Альбертовна, доктор биол. наук, вед. науч. сотр., лаб. физиологии дыхания, ФГБУН «Институт физиологии им. И.П. Павлова» РАН;

Баранова Елизавета Владимировна, мл. науч. сотр., лаб. физиологии дыхания, ФГБУН «Институт физиологии им. И.П. Павлова» РАН, e-mail: liza.vetta-89@yandex.ru