
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЕ УМЕРЕННОЙ ГИПОКСИЕЙ ПОВЫШАЕТ ТОЛЕРАНТНОСТЬ К ПОСЛЕДУЮЩЕЙ ТЯЖЕЛОЙ ГИПОКСИИ У КРЫС С ЛПС-ИНДУЦИРОВАННОЙ ЭНДОТОКСЕМИЕЙ

© 2024 г. Ж. А. Донина^{1, *}

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

*E-mail: zdonina@mail.ru

Поступила в редакцию 12.04.2024 г.

После доработки 16.05.2024 г.

Принята к публикации 17.05.2024 г.

Гиперпродукция медиаторов ЛПС-индуцированного воспалительного процесса (эндотоксикоз, сепсис) инициирует развитие острой дыхательной недостаточности (ОДН), нарушение газообмена, прогрессирующую гипоксемию и гиперкапнию, гипотонию, остановку дыхания и летальный исход. Тяжелый сепсис, ассоциированный с гипоксемией, остается основной причиной смертности, в связи с этим актуальной задачей является разработка методов повышения резистентности к острой гипоксии у септических пациентов. Целью работы явилось исследование эффективности preconditionирования кратковременной интервальной умеренной гипоксией для повышения толерантности к последующей тяжелой гипоксии у крыс с ЛПС-индуцированным эндотоксикозом. Эксперименты проведены на наркотизированных и трахеостомированных крысах-самцах Wistar. Эндотоксикоз моделировали введением раствора ЛПС (*Escherichia coli*) в количестве 7 мг/кг. Для оценки устойчивости к тяжелой гипоксии использовали метод возвратного дыхания с постепенным убыванием кислорода в ребризере от 21% до наступления апноэ. Гипоксическое preconditionирование (гипоксическая тренировка создавали также методом возвратного дыхания в режиме 3 циклов: снижение фракции кислорода в ребризере до 12% – 3 мин, 5 мин – нормоксия. Исследованы 3 группы животных: I – контроль – NaCl, II – ЛПС, III – ЛПС+ГТ. Регистрировали: показатели внешнего дыхания, среднее артериальное давление (АДср.), сатурацию (SpO₂), фракцию вдыхаемого O₂, время наступления апноэ, количество спонтанного восстановления дыхания (аутореанимация) в постгипоксическом периоде. Показано, что введение ЛПС в нормоксических условиях сопровождалось гипервентиляцией, гипоксемией и гипотонией. Максимальное ухудшение устойчивости к тяжелой гипоксии наблюдалось у крыс с ЛПС, что проявлялось падением АДср., SpO₂ и снижением возможности аутореанимации после гипоксического апноэ. Влияние гипоксической тренировки предотвращало снижение АДср., SpO₂ повысилась в 1.4 раза, выживаемость возросла в 2 раза, что сопоставимо с уровнем нормоксии до введения ЛПС. Предполагается, что эффективность гипоксического preconditionирования обусловлена ингибированием воспалительной реакции.

Ключевые слова: эндотоксикоз, гипоксия, гипотония, апноэ, гипоксическое preconditionирование

DOI: 10.31857/S0869813924060099, EDN: BEMYGP

ВВЕДЕНИЕ

Эндотоксемия – максимально выраженная активация иммунной системы, вызванная внедрением липополисахарида (ЛПС) грамотрицательных патогенов, часто используется в качестве трансляционной модели септических состояний [1, 2]. Внедрение ЛПС вызывает системное воспаление, приводящее к активации иммунных клеток, высвобождению медиаторов воспаления – провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , ФНО- α , ИЛ-6), простагландинов (PG), оксида азота (NO), транскрипционного ядерного фактора NF- κ B [3]. Гиперпродукция медиаторов иммунновоспалительного процесса способствует развитию полиорганной дисфункции, при которой чаще всего поражаются дыхательная и сердечно-сосудистая системы [4–6]. Характерными клиническими признаками острой дыхательной недостаточности (ОДН) является массивное диффузное поражение легких, пневмония, снижение эластических свойств легких, тромбоэмболия легочной артерии, ухудшение газообмена, прогрессирующая гипоксемия, риск остановки дыхания и летального исхода [7, 8]. Как свидетельствуют результаты клинических наблюдений у пациентов с ОДН, сопряженной с сепсисом, наблюдаются более тяжелые клинические исходы, чем отдельно при сепсисе или ОДН. Основными причинами высокой смертности при ОДН, ассоциированной с сепсисом, являются крайне острые гипоксические состояния, гиперкапния [9, 10] и сердечно-сосудистые нарушения в виде гипотонии [11]. Прогрессирование воспалительного процесса в сочетании с гипоксемией повышает риск необратимых нарушений кардиореспираторной системы, вызывает апноэ и ослабляет способность к ауторегимации (выживание) после острой аноксии [12–14].

Несмотря на достижения в области медицины, тяжелый сепсис и септический шок остаются основной причиной смертности в большинстве отделений интенсивной терапии, однако медикаментозных средств, специфичных для лечения сепсиса недостаточно. Параллельно данным об отсутствии эффективных средств для поддержания жизнеспособности у септических больных, имеются сообщения, что население горных районов с умеренной гипоксией менее подвержено инфекции COVID-19, имеющей сходную патофизиологию с эндотоксикозом (сепсисом) – развитие острого респираторного дистресс-синдрома, гипоксемия, гипотония. [15, 16]. Учитывая эти факты, предполагается, что предварительная адаптация к умеренной гипоксии может явиться эффективным способом повышения резистентности к последующей острой гипоксии. Согласно этой гипотезе, после соответствующего прерывистого гипоксического воздействия ткани и органы могут формировать сложный и активный механизм защиты от той же или сходной гипоксической среды и развивать резистентность к более тяжелому воздействию, тем самым предотвращая негативные последствия, которые она может вызвать [17, 18].

В настоящее время известно, что интервальная гипоксия является эффективным средством повышения устойчивости органов и тканей к острому дефициту кислорода, увеличения физической работоспособности и общей резистентности организма. В клинических исследованиях выявлены положительные эффекты preconditionирования интервальной гипоксией для улучшения состояния кардиореспираторной системы и толерантности органов и тканей к ишемии [19–24]. В то же время соответствующих исследований и клинических научно обоснованных данных относительно того, может ли кратковременное кондиционирование интервальной умеренной гипоксией повысить резистентность к острой гипоксии у септических пациентов недостаточно, а иммунологические эффекты кратковременной гипоксии малоизвестны.

В связи с изложенным целью работы явилось исследование эффективности интервальной умеренной гипоксии для повышения толерантности к последующей тяжелой гипоксии у крыс при экспериментальном моделировании эндотоксемии.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Животные были получены из Биокolleкции Института физиологии им. И.П. Павлова РАН и содержались в лабораторных условиях при свободном доступе к воде и пище. Опыты проведены на трахеостомированных, наркотизированных уретаном (1200 мг/кг, ООО Вектон, Россия) 24 крысах-самцах Вистар массой 280–300 г. Крысы случайным образом были разделены на 3 группы по 8 крыс в каждой: контрольным крысам (контроль) – вводили внутривентрально 1 мл изотонического физиологического раствора, 2-й (ЛПС) и 3-й (ЛПС+ГТ) группе – раствор липополисахарида (*Escherichia coli*) производства Научно – исследовательского института эпидемиологии и микробиологии им. Гамалеи (Россия) в количестве 7 мг/кг (2 мг на крысу соответственно).

Спустя 40 мин после регистрации фоновых значений, для оценки устойчивости к тяжелой гипоксии крыс контрольной группы (контроль) и с ЛПС тестировали, используя метод возвратного дыхания (ВД) с постепенным снижением фракции кислорода (FiO_2) и удалением избытка CO_2 в ребризере до остановки дыхания (апноэ). Крыс группы (ЛПС+ГТ) предварительно до оценки устойчивости к тяжелой гипоксии подвергали гипоксической тренировке (ГТ) умеренной гипоксией, также используя методику ВД. В процессе ВД FiO_2 во вдыхаемой газовой смеси (в ребризере) постепенно снижалось до $12 \pm 0.5\%$ в течение 3 ± 1 мин, затем крысу переводили на дыхание комнатным воздухом. Режим тренировки состоял из 3 циклов: 3 мин – ГТ, 5 мин – нормоксия.

При оценке гипоксической устойчивости в процессе ВД непрерывно до наступления апноэ методом пневмотахографии регистрировали основные параметры дыхания: дыхательный объем (ДО), частоту дыхания (ЧД), минутный объем дыхания (МОД). Сатурацию ($\text{SpO}_2\%$) фиксировали ветеринарным пульсоксиметром типа UT (Zoomed, Россия). Систолическое и диастолическое давление (АДс, АДд) измеряли в общей сонной артерии прямой катетеризацией сосудов, используя преобразователь давления типа ПДП-300 (Россия). Среднее АД (АДср.) рассчитывали по формуле:

$$\text{АДср.} = \text{АДд} + (\text{АДс} - \text{АДд})/2.$$

В процессе тестирования в дыхательном контуре фиксировали F_1O_2 кислородным анализатором ПГК-06 («Инсовт», Санкт-Петербург), диоксида углерода (F_{ICO_2}) – многокомпонентным малоинерционным газоанализатором МАГ- 6П («Эксис», Москва, Россия), время наступления апноэ, количество спонтанного восстановления дыхания (аутореанимация) после гипоксического апноэ.

Обработку сигналов пневмотахограммы 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. Полученные в экспериментах данные были проверены на нормальность распределения с помощью критерия Шапиро-Уилка. Поскольку распределение данных не соответствовало нормальному, оценку достоверности различий между группами проводили с использованием непараметрического U-критерия Манна-Уитни с поправкой Бонферрони. Различия принимали за статистически значимые при $p < 0.05$ и $p < 0.01$. Данные на рисунках и в таблице представлены в виде медианы и интерквартильного размаха Me (Q1, Me, Q3).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Однократное введение крысам ЛПС через 40 мин вызывало стимуляцию иммунных реакций и развитие системного воспаления. Это выражалось в значительном увеличении легочной вентиляции за счет роста ЧД и ДО, снижения сатурации и артериального давления (табл. 1). Наблюдаемые гипервентиляция, гипоксемия и гипотония являются основными клиническими проявлениями сепсиса, что свидетельствует об адекватности применяемой нами экспериментальной модели эндотоксемии.

Таблица 1. Влияние ЛПС на основные показатели кардиореспираторной системы в условиях нормоксии

Показатели	Физ. р-р (контроль) <i>Me</i> [x_{min} ; x_{max}]	ЛПС <i>Me</i> [x_{min} ; x_{max}]
Дыхательный объем, мл	1.0 [0.8; 1.1]	1.6 [1.5; 1.7]*
Частота дыхания, мин ⁻¹	81.5 [80.0; 89.3]	111.2 [118.2; 106.1]*
Минутный объем дыхания, мл/мин	78.5 [72.3; 84.0]	179.1 [172.4; 185.2]*
Насыщение артериальной крови кислородом, %	96 [95; 97]	84 [79; 89]*
Среднее артериальное давление, мм рт. ст.	120 [110; 130]	62 [57; 67]*

Результаты представлены в виде медианы и размаха *Me* [x_{min} ; x_{max}]. * – $p < 0.05$.

В процессе гипоксической тренировки у крыс группы ЛПС+ГТ в каждом из 3-минутных циклов при постепенном снижении O_2 до 12% наблюдалось увеличение МОД от 179.1 [172.4; 185.2] до 210.5 [200.4; 220.7] мл/мин преимущественно за счет роста ДО от 1.6 [1.5; 1.7] до 2.7 [2.4; 3.0] мл, повышение АДср. от 62 [57; 67] до 95 [91; 99] мм рт. ст. и сатурации от 84 [79; 89] до 90 [85; 95]%. При переходе к нормоксическому дыханию показатели возвращались к значениям, измеренным после введения ЛПС.

При оценке устойчивости к тяжелой гипоксии постепенное снижение содержания O_2 вызывало апноэ у всех исследованных групп крыс. При этом продолжительность дыхания до наступления апноэ у контрольных животных, ЛПС и ЛПС+ГТ была примерно одинаковой, что составляло 8–9 мин. Степень гипоксии (F_1O_2) перед апноэ соответствовала: у контрольной группы 3–4%, ЛПС – 7–8%, ЛПС+ГТ – 5–6%.

В условиях прогрессивно нарастающей гипоксии у крыс контрольной, ЛПС и ЛПС+ГТ групп наблюдалось постепенное уменьшение АДср. Как видно из рис. 1 в точке наступления апноэ максимально выраженное падение АДср отмечалось у крыс группы ЛПС, влияние ГТ предотвращало снижение давления, что проявилось у крыс группы ЛПС+ГТ достижением уровня, сравнимого с исходными значениями в условиях нормоксии перед введением ЛПС.

Как представлено на рис. 2, насыщение артериальной крови кислородом в точке апноэ выявило существенные различия у всех исследованных крыс.

Так, у крыс группы ЛПС отмечалось снижение сатурации в 2 раза по сравнению с контрольными, тогда как влияние ГТ способствовало повышению SpO_2 до 85%, что превышало значения контрольных животных в 1.4 раза и было сопоставимо с уровнем нормоксии при введении ЛПС. При этом следует отметить, что апноэ у крыс группы ЛПС+ГТ возникало при большей степени гипоксии (F_1O_2 5–6%), чем в группе ЛПС (F_1O_2 7–8%).

Длительность постгипоксического апноэ в контроле, группах ЛПС и ЛПС+ГТ была сходной (24.0 ± 2.1 с), существенное различие проявлялось в количестве случаев спонтанного восстановления дыхания (аутореанимация). Как представлено на рис. 3, самопроизвольное возобновление дыхания в контрольной группе происходило у всех 8 животных (100%), в группе с дискретным введением ЛПС только 2 (12%) крысы сохраняли способность к восстановлению дыхания. Влияние предварительной ГТ, оказывая протективное действие, способствовало аутореанимации после тяжелой гипоксии у 4 животных, что в 2 раза превышает уровень у крыс с ЛПС-индуцированной эндотоксемией.

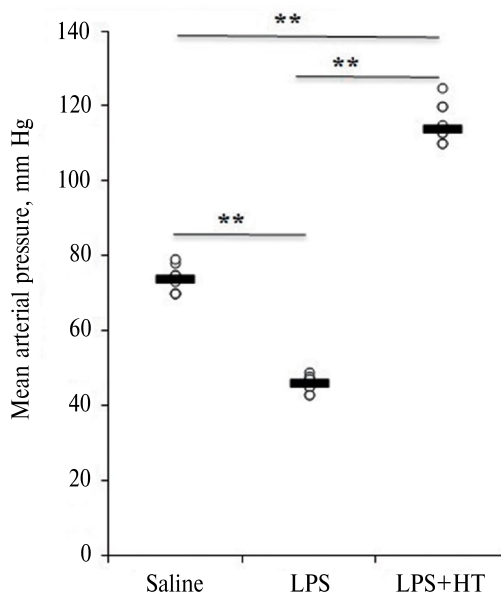


Рис. 1. Среднее артериальное давление у крыс с ЛПС-индуцированной эндотоксемией в точке гипоксического апноэ до и после гипоксической тренировки.

По оси абсцисс – экспериментальные группы, по оси ординат – среднее артериальное давление. ** $p < 0.01$

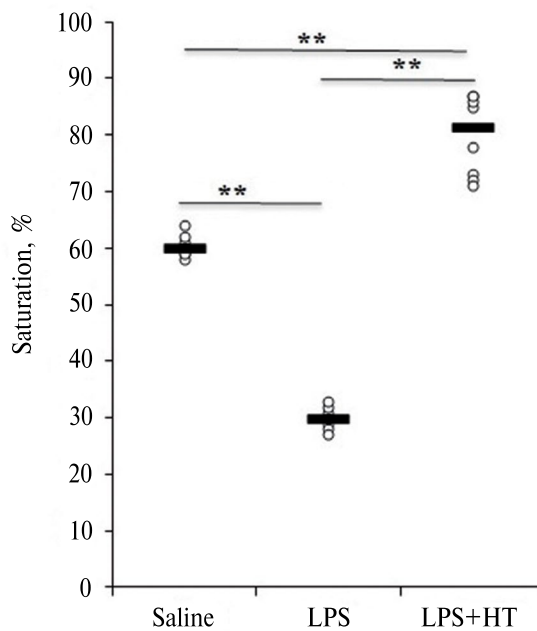


Рис. 2. Сатурация у крыс с ЛПС-индуцированной эндотоксемией в точке гипоксического апноэ до и после гипоксической тренировки. ** $p < 0.01$.

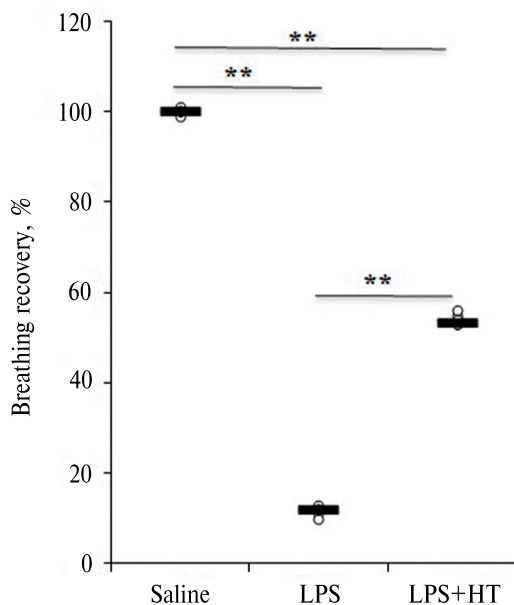


Рис. 3. Постгипоксическое восстановление дыхания у крыс с ЛПС-индуцированной эндотоксемией до и после гипоксической тренировки.

По оси абсцисс – экспериментальные группы, по оси ординат – восстановление в%.

** – $p < 0.01$.

Таким образом, прекондиционирование кратковременной нормобарической интервальной гипоксией способствует снижению степени гипотонии, повышению сатурации и увеличению количества спонтанного возобновления дыхания (аутореанимация) у крыс с ЛПС-индуцированной эндотоксемией после гипоксического апноэ, вызванного тяжелой гипоксией.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Известно, что в развитии патологического состояния важная роль принадлежит провоспалительным цитокинам (ИЛ-1 β , ФНО- α , ИЛ-6), при участии которых формируется иммунный ответ, развивается системная реакция острой фазы воспаления и запускается каскадная экспрессия цитокинов [3, 23, 24]. В проведенном исследовании не определялся цитокиновый профиль, активацию иммунной системы вызывали внедрением ЛПС, способствующем высвобождению медиаторов воспаления – провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , ФНО- α , ИЛ-6) простагландинов (PG), оксида азота (NO), транскрипционного ядерного фактора NF- κ B [1–3]. Наблюдаемые изменения параметров внешнего дыхания, гипотония и гипоксемия после инфузии ЛПС в условиях нормоксии свидетельствуют об адекватности используемой нами модели сепсиса у крыс, наиболее полно соответствующей клинической ситуации [25, 26]. Ранее нами было установлено участие основных провоспалительных цитокинов в снижении резистентности к острой нарастающей гипоксии. При этом снижение устойчивости организма к острой гипоксии проявлялось ослаблением компенсаторного увеличения легочной вентиляции, резким снижением артериального давления, уменьшением насыщения

крови кислородом, более ранней остановкой дыхания (апноэ), при меньшей степени гипоксии, в затруднении спонтанного восстановления дыхания и повышении уровня летальности в постгипоксическом периоде [27, 28].

Обнаруженное нами в настоящей работе повышение резистентности к тяжелой гипоксии свидетельствует о протективном влиянии preconditionирования умеренной гипоксией. Рассматривая механизмы, лежащие в основе эффективности влияния умеренной ГТ на устойчивость к тяжелой гипоксии у крыс с ЛПС-индуцированной эндотоксемией, прежде всего следует отметить, что гипоксия может оказывать как положительный, так и отрицательный эффект, зависящий от концентрации, продолжительности и частоты гипоксического воздействия. В ряде работ установлено, что умеренная гипоксия (FiO_2 9–16%) и небольшое количество циклов (3–15 в день) обладает благоприятным эффектом, тогда как тяжелая гипоксия (FiO_2 2–8%) и более 40 циклов в день усугубляет патологическое состояние [29]. Эти данные свидетельствуют о том, что в основе эффектов кратковременной и хронической гипоксии лежат совершенно разные механизмы.

Можно предполагать, что умеренная гипоксия при кратковременном воздействии способствует стимуляции адаптивных физиологических перестроек. Однако вопрос о том, какие механизмы вовлечены в сложные уровни реализации адаптации к гипоксии окончательно не решен, поскольку данные об иммуномодулирующих эффектах гипоксии противоречивы.

Ряд авторов считает, что протективное действие кратковременной ГТ может являться следствием ингибирования воспалительных реакций путем подавления провоспалительных цитокинов (фактор некроза опухолей, интерлейкин 1- β , интерлейкин-6) и активации противовоспалительных цитокинов (интерлейкин-10) [30, 31]. В других работах также было показано, что гипоксическое preconditionирование, предшествующее ЛПС-индуцированному септическому состоянию, может снижать апоптоз и экспрессию толл-подобных рецепторов (TLR4), осуществляющих трансмембранную передачу сигнала, активизирующих индукцию провоспалительных цитокинов и выработку противовоспалительного интерлейкина-10 [20].

Кроме того, известно, что гиперпродукция оксида азота (NO) в результате активации синтаз оксида азота (NOS) играет ключевую роль в развитии острой гипотонии, характерной для септических состояний различного происхождения [32]. В работах последних лет было продемонстрировано, что периодическая гипоксия препятствует массивной продукции NO в результате образования депо NO, что, в свою очередь, уменьшает вазодилатацию, эффективно способствует вазоконстрикции, тем самым предотвращая гипотонию и риски необратимых последствий [33]. Наши результаты хорошо согласуются с приведенными данными, поскольку у крыс с ЛПС-индуцированной эндотоксемией предварительная кратковременная ГТ устраняла гипотонию при последующем тестировании тяжелой гипоксией.

Согласно современным представлениям, гипоксия модулирует иммунные реакции посредством регуляторов адаптивных ответов клетки – транскрипционных факторов (индуцированные гипоксией факторы HIF-1 α и HIF-2 α) [17, 33]. Исследование цитокинового профиля (ИЛ-1, ИЛ-6, TNF- α и ИЛ-10) показало, что при тяжелой гипоксии содержание цитокинов в сыворотке крови многократно увеличилось, но при этом уровень HIF-1 α не изменился, что свидетельствовало об отсутствии корреляции между уровнем цитокинов и HIF-1 α [34]. Вероятней всего, что на ранней стадии адаптации к гипоксии провоспалительные цитокины не принимают участие в индукции HIF-1 α .

Помимо приведенных выше механизмов влияния кратковременной гипоксии, рассматривается образование пуринового нуклеотида аденозина в результате стимуляции гипоксией аденозинового рецептора A2B и ингибирования аденозинкиназы [35]. Аденозин вызывает усиленную экспрессию противовоспалительного цитокина – интерлейкина-10 (ИЛ-10), обладающего широким спектром тканезащитных и противовоспалительных свойств [36]. При воспалении также усиливается генерация аденозина,

следовательно, гипоксия и воспаление могут оказывать аддитивный или синергический эффект на образование аденозина [37, 38]. В условиях хронической гипоксии (11–27 дней) введение мышам эндотоксина вызывало повышение уровня провоспалительного цитокина ФНО- α , тогда как быстродействующий миметик гипоксии DMOG (диметил-локсалилглицин) у эндотоксических мышей оказывал противовоспалительный эффект [39]. Полученные в настоящей работе данные позволяют полагать, что иммуномодулирующие свойства кратковременной гипоксии, проявляющиеся через несколько минут после воздействия, вызваны быстрым возрастанием уровня внеклеточного аденозина, имеющего короткий период полураспада, и экспрессией ИЛ-10 [37, 38].

Вероятно, что помимо других механизмов протективного влияния умеренной гипоксии, предотвращение гипотонии, ингибирование воспалительных реакций путем подавления провоспалительных цитокинов, повышенное образование внеклеточного аденозина и экспрессия противовоспалительного ИЛ-10, играют значительную роль в ослаблении провоспалительного цитокинового ответа.

Таким образом, интервальная кратковременная нормобарическая гипоксия повышает резистентность к тяжелой гипоксии при ЛПС-индуцированной эндотоксемии. В целом полученные нами результаты демонстрируют возможность рассматривать прекондиционирование кратковременной умеренной гипоксией в качестве немедикаментозного метода ингибирования гиперактивации иммунной системы и повышения толерантности к тяжелой гипоксии при разработке новых стратегий лечения пациентов в критическом состоянии.

ВКЛАД АВТОРОВ

Постановка задачи, планирование эксперимента, проведение экспериментов, сбор данных и их обработка, написание и редактирование статьи – Ж. А. Д.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Данная работа финансировалась за счет средств бюджета в рамках государственного задания Института физиологии им. И. П. Павлова РАН в рамках государственного задания (№ 1021062411787–0–3.1.8). Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Эксперименты с животными проводились в соответствии с международными рекомендациями по проведению биомедицинских исследований с лабораторными животными и были одобрены Комиссией по этике Института физиологии им. И. П. Павлова РАН, протокол №08/25 от 25 июня 2022 г.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет, что у нее нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Черкасова МН (2021) К проблеме экспериментального моделирования сепсиса. Успехи совр биол 141(4): 368–381. [Cherkasova MN (2021) On the problem of experimental modeling of sepsis. The successes of modern biol 141(4): 368–381. (In Russ)].
2. Корнеев КВ (2019) Мышинные модели сепсиса и септического шока. Мол Биол 53(5): 799–814. [Korneev KV (2019) Mouse Models of Sepsis and Septic Shock. Mol Biol 53(5): 799–814. (In Russ)].
<https://doi.org/10.1134/S0026898419050100>

3. Симбирцев АС, Толоян АА (2015) Цитокины в лабораторной диагностике. Инфекц болезни: новости, мнение, обучение 2: 82–98. [Simbirtsev AS, Totolyan AA (2015) Cytokines in laboratory diagnostics. Infect diseases: news, opinion, education 2: 82–98. (In Russ)].
4. Jacono FJ, Mayer CA, Hsieh Y-H, Wilson G, Dick T (2011) Lung and brainstem cytokine levels are associated with breathing pattern changes in a rodent model of acute lung injury. *Resp Physiol Neurobiol* 178(3): 429–438.
<https://doi.org/10.1016/j.resp.2011.04.022>
5. Трушина ЕЮ, Костина ЕМ, Молотилов БА, Типикин ВА, Баранова НИ (2019) Роль цитокинов IL-4, IL-6, IL-8, IL-10 в иммунопатогенезе хронической обструктивной болезни легких. *Мед иммунол* 21(1): 89–98. [Trushina IM, Kostina EM, Molotilov BA, Tipikin VA, Baranova NI (2019) The role of cytokines IL-4, IL-6, IL-8, IL-10 in the immunopathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. *Med Immunol* 21(1): 89–98. (In Russ)].
<https://doi.org/10.15789/1563-0625-2019-1-89-98>
6. Hocker AD, Stokes AJ, Powell FL, Huxtable AG (2017) The impact of inflammation on respiratory plasticity. *Exp Neurol* 287: 243–253.
<https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2016.07.022>
7. Spinelli E, Mauri T, Beutler JR, Pesenti A, Brodie D (2020) Respiratory drive in the acute respiratory distress syndrome: pathophysiology, monitoring, and therapeutic interventions. *Intensive Care Med* 46(4): 606–618.
<https://doi.org/10.1007/s00134-020-05942-6>
8. Yildirim F, Karaman İ, Kaya A (2021) Current situation in ARDS in the light of recent studies: Classification, epidemiology and pharmacotherapeutics. *Tuberk Toraks* 69(4): 535–546.
<https://doi.org/10.5578/tt.20219611>
9. Szyc I, Adam N, Pejak T (2022) Sepsis definition: wat's new in the treatment guidelines. *Acta Clin Croatica* 61(Suppl 1): 67–72.
<https://doi.org/10.20471/acc.2022.61.s1.11>
10. Saas P, Fan G-C (2023) Editorial: Hypoxia and inflammation: A two-way street. *Front Immunol* 8: 14:1171116.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1171116>
11. Angus DC, van der Poll T (2013) Severe sepsis and septic chock. *New Engl J Med* 69: 840–851.
<https://doi.org/10.1056/NEJMra1208623>
12. Vuichard D, Ganter M, Schimmer R, Suter D, Booy C, Reyes L, Pasch T, Beck-Schimmer B (2005) Hypoxia aggravates lypopolysaccaride-induced lung injury. *Clin Exp Immunol* 141: 248–260.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2005.02835.x>
13. Lorea-Hernández J-J, Morales T, Rivera-Angulo A-J, Alcantara-Gonzalez D, Pena-Ortega F (2016) Microglia modulate respiratory rhythm generation and autoresuscitation. *Glia* 64: 603–619.
<https://doi.org/10.1002/glia.22951>
14. Mirchandani AS, Jenkins SJ, Bain CC., Sanchez-Garcia MA, Lawson H, Coelho P, Murphy F, Griffith DM, Zhang A, Morrison T, Ly T, Arienti S, Sadiku P, Watts ER, Dickinson RS, Reyes L, Cooper G, Clark S, Lewis D, Kelly V, Spanos C, Musgrave KM, Delaney L, Harper I, Scott J, Parkinson NJ, Rostrom AJ, Baillie JK, Clohisey S, Pridans C, Campana L, Lewis PS, Simpson AJ, Dockrell DH, Schwarze J, Hirani N, Ratcliffe PJ, Pugh CW, Kranc K, Forbes SJ, Whyte MKB, Walmsley SR (2022) Hypoxia shapes the immune landscape in lung injury and promotes the persistence of inflammation. *Nature Immunol* 23(6): 927–939.
<https://doi.org/10.1038/s41590-022-01216-z>
15. Solaimanzadeh I (2020) Acetazolamide, nifedipine and phosphodiesterase inhibitors: rationale for their utilization as adjunctive countermeasures in the treatment of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Cureus* 12(3): e7343.
<https://doi.org/10.7759/cureus.7343>
16. Geier MR, Geier DA (2020) Respiratory conditions in coronavirus disease 2019 (COVID-19): Important considerations regarding novel treatment strategies to reduce mortality. *Med Hypotheses* 140: 109760.
<https://doi.org/10.1016/j.mehy>
17. Semenza GL (2011) Oxygen sensing, homeostasis, and disease. *New Engl J Med* 36(6): 537–547.
<https://doi.org/10.1056/NEJMra1011165>
18. Verges S, Chacaroun S, Godin-Ribuot D, Baillieul S (2015) Hypoxic conditioning as a new therapeutic modality. *Front Pediatr* 3: 58.
<https://doi.org/10.3389/fped.2015.00058>
19. Cai M, Chen X, Shan J, Xu P, Shi X, Chu L, Wang L (2021) Intermittent hypoxic preconditioning: A potential new powerful strategy for COVID-19. *Front Pharmacol* 12: 643619.
<https://doi.org/10.3389/fphar.2021.643619>

20. *Supriya R, Singh K, Gao Y, Tao D, Cheour S, Dutheil F, Baker J* (2023) Mimicking gene–environment interaction of higher altitude dwellers by intermittent hypoxia training: COVID-19 Preventive strategies. *Biology (Basel)* 12(1): 6.
<https://doi.org/10.3390/biology12010006>
21. *Zhang Q, Zhao W, Li S, Ding Y, Wang Y, Ji X* (2023) Intermittent hypoxia conditioning: A potential multi-organ protective therapeutic strategy. *Int J Med Sci* 20(12): 1551–1561.
<https://doi.org/10.7150/ijms.86622>
22. *Millet GP, Chapman RF, Girard O, Brocherie F* (2019) Is live high-train low altitude training relevant for elite athletes? Flawed analysis from inaccurate data. *Br J Sports Med* 53: 923–925.
<https://doi.org/10.1136/bjsports-2017-098083>
23. *Martin A, Millet G, Osredkar D, Mramor M, Faes C, Gouraud E, Debevec T, Pialoux V* (2020) Effect of pre-term birth on oxidative stress responses to normoxic and hypoxic exercise. *Redox Biol* (32): 101497.
<https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101497>
24. *DeClue F, Williams K, Sharp C, Haak C, Lechner E, Reinero C* (2009) Systemic response to low-dose endotoxin infusion in cats. *Veter Immunol Immunopathol* 132: 167–174.
<https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2009.06.002>
25. *Kumar S, Adhikari A* (2017) Dose-dependent immunomodulating effects of endotoxin in allergic airway inflammation. *Innate Immun* 23: 249–257.
<https://doi.org/10.1177/1753425917690443>
26. *Донина ЖА, Баранова ЕВ, Александрова НП* (2016) Влияние провоспалительного цитокина интерлейкина 1- β на резистентность организма к острой гипоксии. *Рос физиол журн им ИМ Сеченова* 102(11): 1333–1342, [*Donina ZA, Baranova EV, Aleksandrova NP* (2016) Effects of proinflammatory cytokine interleukin 1 β on resistance to acute hypoxia. *Russ J Physiol* 102 (11): 1333–1342. (In Russ)].
27. *Donina ZA, Baranova EV, Aleksandrova NP* (2021) 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. *J Evol Biochem Physiol* 57(4): 936–944.
<https://doi.org/10.1134/S0022093021040177>
28. *Gangwar A, Paul S, Ahmad Y, Bhargava K* (2020) Intermittent hypoxia modulates redox homeostasis, lipid metabolism associated inflammatory processes and redox post-translational modifications: benefits at high altitude. *Scient Rep* 10(1): 7899.
<https://doi.org/10.1038/s41598-020-64848-x>
29. *Huang L, Wu S, Li H, Dang Z, Wu Y, Dang Y* (2019) Hypoxic preconditioning relieved ischemic cerebral injury by promoting immunomodulation and microglia polarization after middle cerebral artery occlusion in rats. *Brain Res* 15: 1723:146388.
<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2019.146388>
30. *Li G, Guan Y, Gu Y, Guo M, Ma W, Shao Q, Liu L, Ji X* (2023) Intermittent hypoxic conditioning restores neurological dysfunction of mice induced by long-term hypoxia. *CNS Neurosci Therap* 29: 202–217.
<https://doi.org/10.1111/cns.13996>
31. *Song M, Zwemer C, Whitesall S, D'Alecy L* (2007) Acute and conditioned hypoxic tolerance augmented by endothelial nitric oxide synthase inhibition in mice. *J Appl Physiol* 102(2): 610–615.
<https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00894>
32. *McGettrick AF, O'Neill LAJ* (2020) The role of HIF in immunity and inflammation. *Cell Metabol* 32(4): 524–536.
<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2020.08.002>
33. *KiersD, Wielockx B, PetersE, van Eijk LT, Gerretsen J, John A, Janssen E, Groeneveld R, Peters M, Damen L, Meneses AM, Krüger A, Langereis JD, Zomer AL, Blackburn MR, Joosten LA, Netea MG, Riksen NP, van der Hoeven JG, Scheffer GJ, Eltzschig HK, Pickkers P, Kox M* (2018) Short-term hypoxia dampens inflammation *in vivo* via enhanced adenosine release and adenosine 2B receptor stimulation. *eBioMedicine* 33: 144–156.
<https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2018.06.021>
34. *Wang X, Wong K, Ouyang W et al.* (2019) Targeting IL-10 family cytokines for the treatment of human diseases. *Cold Spring Harbor Perspect Biol* 11(2): a028548.
<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a028548>
35. *Santiago A, Madeira M, Boia R, Aires ID Rodrigues-Neves A, Santos P* (2020) Keep an eye on adenosine: Its role in retinal inflammation. *Pharmacol Therap* 210: 107513.
<https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2020.107513>
36. *Zhang T, Yu-Jing L, Ma T* (2022) The immunomodulatory function of adenosine in sepsis. *Front Immunol* 13: 936547.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.936547>

37. Baze MM, Hunter K, Hayes JP (2011) Chronic hypoxia stimulates an enhanced response to immune challenge without evidence of an energetic tradeoff. *J Exp Biol* 214: 3255–3268.
<https://doi.org/10.1242/jeb.054544>
38. Hams E, Saunders S, Cummins E, O'Connor A, Tambuwala M, Gallagher W, Byrne A, Campos-Torres A, Moynagh P, Jobin C, Taylor C, Fallon P (2011) The hydroxylase inhibitor dimethyloxallyl glycine attenuates endotoxic shock via alternative activation of macrophages and IL-10 production by B1 cells. *Shock* 36: 295–302.
<https://doi.org/10.1097/SHK.0b013e318225ad7e>
39. Takahashi T, Otsuguro K, Ohta T, Ito S (2010) Adenosine and inosine release during hypoxia in the isolated spinal cord of neonatal rats. *Br J Pharmacol* 161: 1806–1816.
<https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2010.01002.x>

Preconditioning with Moderate Hypoxia Increases Tolerance to Subsequent Severe Hypoxia in Rats with LPS-Induced Endotoxemia

Zh.A. Donina^{a,*}

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

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

Hyperproduction of mediators of LPS-induced inflammatory process (endotoxiosis, sepsis) initiates the development of acute respiratory failure (ARF), impaired gas exchange, progressive hypoxemia and hypercapnia, hypotension, respiratory arrest and death. Severe sepsis associated with hypoxemia remains the main cause of death, and therefore the development of methods to increase resistance to acute hypoxia in septic patients is an urgent task. The aim of the work was to study the effectiveness of preconditioning with short-term intermittent moderate hypoxia to increase tolerance to subsequent severe hypoxia in rats with LPS-induced endotoxiosis. The experiments were carried out on anesthetized and tracheostomated male Wistar rats. Endotoxiosis was modeled by administration of a lipopolysaccharide solution (*Escherichia coli*) in an amount of 7 mg/kg. To assess resistance to severe hypoxia, the rebreathing method of (RM) with a gradual decrease in oxygen in the rebreather from 21% to the onset of apnea was used. Hypoxic preconditioning (hypoxic training, HT) was also created by the method of RM in the mode of 3 cycles: reduction of the oxygen fraction in the rebreather to 12% – 3 min, 5 min – normoxia. 3 groups of animals were studied: I-control-NaCl, II-LPS, III-LPS+HT. The following parameters were recorded: external respiration, mean blood pressure (APm), saturation (SpO₂), fraction of inhaled O₂, time of onset of apnea, the amount of spontaneous respiratory recovery (autoresuscitation) in the posthypoxic period. It was shown that the administration of LPS under normoxic conditions was accompanied by hyperventilation, hypoxemia and hypotension. The maximum deterioration in resistance to severe hypoxia was observed in rats with LPS, which was manifested by a decrease in APm, SpO₂ and a decrease in the possibility of autoresuscitation after hypoxic apnea. The effect of HT prevented a decrease in blood pressure, SpO₂ increased by 1.4 times, survival increased by 2 times, which is comparable to the level of normoxia before the introduction of LPS. It is assumed that the effectiveness of hypoxic preconditioning is due to the inhibition of the inflammatory response.

Keywords: endotoxiosis, hypoxia, hypotension, apnea, hypoxic preconditioning