

УДК 612.281:612.398.192:616-092.9

РОЛЬ ГАМКЕРГИЧЕСКОЙ МЕДИАТОРНОЙ СИСТЕМЫ В РЕАЛИЗАЦИИ ГИППОКАМПАЛЬНЫХ ВЛИЯНИЙ НА МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ ЛЕГКИХ

С.А. Лукина, М.Р. Тимофеева, Е.В. Волкова

Ижевская государственная медицинская академия

В опытах на крысах изучали метаболизм липидов сурфактанта, кровенаполнение, водный баланс и гемостазконтролирующую функцию легких при формировании очага патологической активности в области дорзального гиппокампа в сочетании с интрацеребральным введением ГАМК в боковой желудочек мозга. Установлено, что в условиях повышения активности ГАМК-ергической медиации устраняются явления эндотелиальной дисфункции в системе малого круга кровообращения, восстанавливается легочное кровенаполнение, измененные при активации лимбической структуры мозга, с сохранением дизрегуляторных расстройств сурфактантной системы и водного баланса легких

Ключевые слова: *дорзальный гиппокамп, ГАМК-ергическая система, сурфактант, водный баланс легких, система гемостаза*

Введение. ГАМК-ергическая система мозга вовлечена в функционирование почти 70% всех его нейронов, обеспечивая как межнейронное взаимодействие структур, так и внутриклеточный метаболизм [1]. В настоящее время к изучению роли ГАМК-ергических механизмов в системе контроля висцеральных функций организма и при развитии дизрегуляторной патологии привлечено пристальное внимание. С одной стороны, известно об их участии в реализации стресс-лимитирующих программ и обеспечении эффективности саногенетических механизмов при патологии внутренних органов [8]. С другой стороны, установлена роль ГАМК-ергической медиации в формировании патологических паттернов дыхания, доказано изменение активности ГАМК-ергической системы при черепно-мозговых травмах и ишемическом повреждении нейронов [12; 17]. Причем в силу особенностей анатомического строения и функциональной активности, в патологический процесс при повреждении мозга различного генеза часто вовлекается гиппокамп, нейроны которого характеризуются низким порогом активации, избирательной ранимостью, и являются одним из основных источников формирования патологически детерминантных очагов [16]. Проявляется дизрегуляторная патология развитием висцеропатий, с наиболее частым вовлечением в патологический процесс легочной ткани [14]. Причем нарушения метаболических функций легких часто предшествует расстройству газообмена и опережают клинику дыхательной недостаточности.

Исходя из этого, целью исследования стало изучение метаболизма липидов сурфактанта, кровенаполнения, водного баланса легких, состояния коагуляционного гемостаза в системе малого круга кровообращения при дисфункции гиппокампа и при воздействии на структуру мозга в условиях повышенной ГАМК-ергической активности.

Материал и методика. Эксперименты выполнены на беспородных крысах-самцах (n=61) с исходной массой тела 250-280г, содержащихся в стандартных условиях вивария, с соблюдением правил работы с лабораторными животными. Опытных крыс наркотизировали этаминалом натрия (50мг/кг), фиксировали в стереотаксической установке СЭЖ-5, затем в область дорзального гиппокампа (CA1) по стереотаксическим координатам атласа мозга крысы [15]: P=2,1, L=2,5, V=3,5 с помощью микроинъектора имплантировали 1мг мелкодиспергированного металлического кобальта «Реахим», способного индуцировать формирование зеркального очага усиленного возбуждения в гомологичной структуре контралатерального полушария [6]. Другой группе животных активацию гиппокампа сочетали с введением в боковой желудочек мозга ГАМК в дозе 40 нмоль в 1мкл 0,9% раствора натрия хлорида по координатам: P=3,8, L=4,8, V=6,5. Введение медиатора осуществляли через день с 7 по 14 день эксперимента, в условиях сформированного в структуре генератора патологического возбуждения. Контролем служили ложноперирированные животные с погружением микроинъектора в гиппокамп и введением в боковой желудочек мозга 1мкл 0,9% раствора натрия хлорида. После завершения эксперимента проводили морфологический контроль локализации кобальта и канюли в структурах мозга.

Для исследования компонентов сурфактантной системы легких получали бронхоальвеолярные смывы (БАС) в объеме 30–35 мл, промывая легкие 0,9% раствором натрия хлорида. Смыв помещали в кювету с подвижным барьером. После формирования мономолекулярной пленки на поверхности жидкости определяли статическое поверхностное натяжение (ПН) методом отрыва от нее вертикальной пластинки. Затем оценивали минимальное и максимальное ПН в динамике растяжения и сжатия монослоя от 20% до 100% площади кюветы. Исходя из величин минимального и максимального ПН, рассчитывали индекс стабильности (ИС) поверхностной пленки БАС по J. Clements [2]. Определяли общее количество фосфолипидов (ФЛ) и холестерина (Хол) в составе сурфактанта [5]. Рассчитывали коэффициент ФЛ/Хол. Активность фосфолипазы А определяли по количеству жирных кислот, отщепившихся от субстрата под действием фермента исследуемого материала (БАС) в результате фосфолипазного гидролиза [13]. Оценивали клеточный состав БАС в мазках, окрашенных по

Романовскому-Гимзе. Фагоцитарную активность макрофагов определяли по поглощению частиц монодисперсного латекса диаметром 1,4 мкм. Для оценки водного баланса легких был использован гравиметрический метод [3]. Определяли массу сердца, влажных и высушенных легких. Оценивали содержание гемоглобина в крови и гомогенате легочной ткани гемиглобинцианидным методом, на основании чего рассчитывали кровенаполнение легких, содержание в них общей и экстраваскулярной жидкости. Для оценки метаболической активности легких по поддержанию оптимального коагуляционного потенциала крови оценивали показатели гемостаза в притекающей к легким венозной и оттекающей от них артериальной крови с последующим расчетом артерио-венозного коэффициента по каждому показателю. Исследовали активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), протромбиновое время (ПВ), время ХПа – зависимость фибринолиза с помощью серии тестов, выполненных на турбидиметрическом гемокоагулометре С GL 2110 «Solar» с применением реактивов фирмы «Технология-Стандарт» (Барнаул). Обработка данных выполнена с использованием пакета прикладных компьютерных программ Microsoft Exel 2000 и SPSS 17 for Windows. Проверку статистических гипотез в группах проводили с использованием непараметрического парного критерия Вилкоксона. Результаты представлены в виде средней арифметической и её стандартной ошибки ($M \pm m$). Для выявления зависимостей между различными показателями проводился корреляционный анализ по Спирмену (r_s). Различия средних величин считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Было установлено, что в условиях дисфункции гиппокампа в составе сурфактанта содержание холестерина увеличилось в два раза и достигло $99,31 \pm 12,89$ мкмоль/г ($p < 0,01$), без изменений фракции фосфолипидов (таблица). Коэффициент ФЛ/ Хол при этом уменьшился до $1,81 \pm 0,22$, вместо $3,3 \pm 0,25$ усл.ед. в контроле ($p < 0,001$). Изменения липидного состава сурфактанта легких отразились на его поверхностно-активных свойствах, что проявилось увеличением минимального ПН и уменьшением ИС альвеол ($p < 0,001$). Возможно, решающим фактором в изменении состава и свойств альвеолярной выстилки была низкая эффективность процессов катаболизма компонентов сурфактанта, о чем свидетельствует снижение числа и активности фагоцитирующих клеток в составе БАС, значительное уменьшение активности фосфолипазы ($p < 0,01$) (таблица). Известно, что между процессами синтеза и деградации компонентов сурфактанта существует определенный баланс, который достигается сложной многоуровневой регуляцией метаболизма поверхностно-активных веществ легких. Изменение оптимального режима метаболизма липидов в условиях дисфункции гиппокампа привело к развитию

сурфактантопатии с повышением эластического сопротивления легочной ткани, что может быть важным звеном патогенеза развития дыхательной недостаточности.

По мнению многих исследователей, гиппокамп является ингибиторной структурой эмоциональных и соматовегетативных реакций организма. Тормозные эффекты гиппокампа, как полагают, зависят от активности его ГАМК-ергических нейронов, внутригиппокампальной системы возврата, тормозных тонических влияний на лимбическую структуру мозга. Известно, что гиппокамп не имеет самостоятельного эфферентного выхода на висцеральные органы, однако среди его многочисленных морфофункциональных взаимосвязей наибольший интерес представляют связи с высшим центром регуляции висцеральных функций – гипоталамусом. Возможно, что гиппокампальные эфферентные сигналы опосредуются гипоталамическим реле и передаются, как лимбико-диэнцефальные регуляторные влияния через связи гипоталамуса со структурами симпатической и парасимпатической нервной системы, а также через системы гипофиз – кора надпочечников, гипофиз – щитовидная железа. В частности, доказано наличие прямых структурных связей гиппокампа с нейросекреторными гипоталамическими ядрами – паравентрикулярным и супраоптическим, активность которых изменяется при его локальной деструкции или электростимуляции [4].

Установлено, что разнонаправленные изменения гиппокампальной активности отражаются на секреторных процессах в надпочечниках. Показаны как ограничение, так и усиление выработки гормонов при электростимуляции гиппокампа в зависимости от исходного состояния животного. Однако получило признание преимущественно тормозное влияние гиппокампа на деятельность адренкортикальных механизмов [10].

В дальнейших экспериментальных исследованиях повышение ГАМК-ергической медиации посредством введения ГАМК в боковой желудочек мозга проявилось увеличением оборота липидов сурфактанта, с преобладанием процессов катаболизма компонентов альвеолярной выстилки. Возросло число активно фагоцитирующих клеток в составе БАС до $74,29 \pm 1,91\%$ ($p < 0,05$), в 5 раз увеличилась активность фосфолипазы ($p < 0,05$), выявлена прямая корреляционная взаимосвязь между фагоцитарным индексом и липазной активностью БАС ($r_s = 0,66$), ($p < 0,05$). В составе сурфактанта при этом уменьшилось содержание как ФЛ, так и Хол ($p < 0,05$), а его поверхностная активность понизилась еще в большей степени: ПН мин возросло до $21,16 \pm 0,75$ мН/м, при более значительном снижении ИС альвеол ($p < 0,05$) (таблица). Таким образом, изменение активности метаболизма липидов сурфактанта, индуцированное введением ГАМК в боковой желудочек мозга на фоне дисфункции гиппокампа, не обеспечило восстановления

оптимума поверхностно-активных свойств альвеолярной выстилки. Измененный баланс нейромедиаторов еще в большей степени усугубил дизрегуляторные расстройства липидного обмена легких.

Т а б л и ц а
Показатели метаболических функций легких при имплантации кобальта в область дорзального гиппокампа на фоне микроинъекции ГАМК в боковой желудочек мозга

Показатели	Контроль (n = 29)	Кобальт в гиппокамп (n = 21)	Кобальт в гиппокамп+ГАМК (n=11)
ФЛ (мкмоль/г)	142,66 ± 6,54	164,49 ± 7,67	91,87 ± 7,63**^
Хол (мкмоль/г)	48,11 ± 3,74	99,31 ± 12,89**	9,85 ± 1,23**^
ФЛ / Хол (усл.ед.)	3,27 ± 0,21	1,81 ± 0,22***	11,27 ± 2,01**^
ПН:			
статическое (мН/м)	31,144 ± 0,46	29,26 ± 1,45*	32,95 ± 0,85
минимальное (мН/м)	17,00 ± 0,16	18,91 ± 0,51***	21,16 ± 0,75 **^
максимальное (мН/м)	34,83 ± 0,85	36,40 ± 0,33	35,56 ± 0,82
ИС (усл.ед.)	0,68 ± 0,02	0,63 ± 0,02***	0,51 ± 0,02**^
Клет. состав БАС:			
Макрофаги %	84,79 ± 0,97	73,88 ± 1,08***	46,7 ± 2,04**^
Лимфоциты %	13,89 ± 0,97	23,75 ± 1,22***	52,5 ± 1,88**^
Нейтрофилы %	1,31 ± 0,18	2,38 ± 0,38	0,9 ± 0,27^
Фаг. индекс (%)	48,55 ± 1,01	25,25 ± 0,75***	74,29 ± 1,91**^
Фаг. число (усл.ед)	2,09 ± 0,06	1,55 ± 0,15*	3,27 ± 0,08**^
Общая жидкость (%)	105,61 ± 3,81	134,02 ± 6,33	137,78 ± 6,61**
Кровенаполнение(%)	5,55 ± 0,58	3,36 ± 0,46***	5,95 ± 0,91^
Экстр. жидкость (%)	101,0 ± 3,62	131,23 ± 6,21*	132,85 ± 6,15**
Сухой остаток (%)	19,52 ± 0,92	17,23 ± 0,48	15,8 ± 0,81**
Фосфолипаза (ЕД)	35,32 ± 3,05	10,73 ± 3,62**	53,98 ± 4,31*^^
АЧТВ арт (сек)	33,32 ± 0,87	28,70 ± 1,88	37,81 ± 3,83^
АЧТВ вен (сек)	21,38 ± 0,60	41,66 ± 2,29***	34,69 ± 2,59**^
АЧТВарт/вен (усл.ед)	1,63 ± 0,05	0,69 ± 0,03***	1,06 ± 0,07**^
ПВ арт (сек)	29,64 ± 1,69	12,84 ± 0,37***	27,87 ± 1,33^
ПВ вен (сек)	16,6 ± 0,81	21,38 ± 0,77*	16,91 ± 2,42
ПВ арт/вен (усл.ед.)	1,90 ± 0,16	0,60 ± 0,01***	1,85 ± 0,18^

Примечание. *p <0,05; **p <0,01; ***p <0,001 – по сравнению с контролем.
^ p <0,05; ^^ p <0,01; ^^ ^ p <0,001 по сравнению с имплантацией кобальта в гиппокамп.

Изменения водного баланса легочной ткани в условиях формирования патологической детерминанты в области дорзального гиппокампа характеризовались увеличением объема внесосудистой жидкости, уменьшением сухого остатка, сохранявшиеся в условиях введения ГАМК в боковой желудочек мозга (таблица). Причем, выявленные в последнем случае отрицательные корреляции между показателем, характеризующим содержание жидкости в

экстраваскулярном секторе и холестеринем сурфактанта ($r_s = -0,69$) ($p < 0,05$), отражают взаимосвязь водного и липидного обмена легких в условиях дизрегуляторной патологии. Аналогичную взаимосвязь параметров отмечал в своих работах В.П. Михайлов [7], определявший уменьшение содержания холестерина в составе сурфактанта при развитии центрального отека легких. Вместе с тем, легочное кровенаполнение, уменьшенное при дисфункции лимбической структуры мозга, восстановилось до контрольных значений при возрастании активности ГАМКергической медиации.

Анализ показателей системы гемостаза позволил установить, что при дисфункции гиппокампа коагуляционный потенциал венозной крови, притекающей к легким, был несколько понижен, о чем свидетельствует удлинение как АЧТВ, так и ПВ (табл.), с последующей гиперкоагуляцией артериальной крови, особенно с повышением ее тромбопластической активности. Артерио-венозная разница по исследуемым показателям коагуляционного гемостаза была инвертирована (таблица) ($p < 0,001$). Время фибринолиза венозной крови, напротив, уменьшилось до $10,74 \pm 0,43$ против $13,63 \pm 0,45$ мин в контроле ($p < 0,001$), а в артериальном секторе активность фибринолитической системы была понижена, на что указывает удлинение времени лизиса сгустка до $14,61 \pm 1,36$ при $9,34 \pm 0,44$ мин в сравниваемой серии ($p < 0,001$). Усилились по сравнению с контролем корреляционные взаимосвязи между параметрами свертывающей и фибринолитической систем крови: АЧТВ арт. – фибринолиз арт. - $r_s = -0,63$, ($p < 0,05$), ПВ арт. – фибринолиз арт. - $r_s = -0,67$, ($p < 0,05$), что, на наш взгляд, отражает напряженность механизмов, регулирующих баланс про – и антикоагулянтов в системе малого круга кровообращения в условиях дизрегуляторной патологии.

В легочном кровотоке, как известно, в норме повышается фибринолитический потенциал крови, что связывают с увеличением продукции эндотелиоцитами активаторов пламиногена и снижением уровня ингибиторов фибринолиза [11]. Увеличение тромбогенного потенциала крови и преобладание вазоконстрикторных реакций характеризует развитие эндотелиальной дисфункции [9], что отмечается нами в системе малого круга кровообращения в условиях активации гиппокампа. Среди основных причин развития эндотелиальной дисфункции называют гипоксию, повреждение эндотелия свободными радикалами, гиперцитокинемию, гипертензивные реакции легочных сосудов [9]. Наличие прямой корреляционной взаимосвязи показателя, характеризующего легочное кровенаполнение и ПВ артериальной крови $r_s = 0,71$ ($p < 0,05$) позволяет предположить зависимость высокой тромбопластической активности крови от гемодинамического фактора в условиях развития дизрегуляторной пневмопатии. Введение ГАМК в боковой желудочек мозга привело к оптимизации коагуляционного

потенциала как венозной, так и артериальной крови по показателям АЧТВ и ПВ (таблица), артерио-венозная разница приблизилась к контрольным значениям, с одновременным восстановлением легочного кровотока (табл).

Заключение. Результаты проведенных исследований позволили установить, что при введении ГАМК в боковой желудочек мозга устраняются проявления эндотелиальной дисфункции, индуцированные формированием очага патологической активности в области дорзального гиппокампа, но сохраняются дизрегуляторные расстройств метаболизма липидов сурфактанта и водного баланса легких.

Список литературы

1. *Ашмарин И.П., Стукалов П.В., Ещенко Н.Д.* Биохимия мозга. СПб.: Изд-во СПбГУ, 1999. 325 с.
2. *Березовский В.А., Горчаков В.Ю.* Поверхностно-активные вещества легкого. Киев: Наук. думка, 1982. 168 с.
3. *Бобриков А.В.* Влияние искусственной вентиляции на сосудистую проницаемость и лимфатический дренаж легких (экспериментальное исследование): автореф. дис. ... канд. мед. наук. СПб., 1999. 19 с.
4. *Зверев, А.Ф., Брюханов В.М.* О функциональной роли кортикостероидных рецепторов гиппокампа // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2004. Т. 90, № 8. С. 138.
5. *Комаров Ф.И., Коровкин Б.Ф., Меньшиков В.В.* Биохимические исследования в клинике. Л.: Медицина, 1981. 407 с.
6. *Крыжановский Г.Н.* Общая патофизиология нервной системы // Патол. физиол. и эксперим. терапия. 1991. № 2. С. 49–56.
7. *Михайлов, В.П., Минасян Н.М.* Роль холестерина в резистентности легких к эдемогенным воздействиям // III Всероссийский конгресс по патофизиологии: матер. М., 2004. С. 80.
8. *Перфилова В.Н., Тюренков В.Н.* Роль ГАМК-ергической системы в ограничении стрессорного повреждения миокарда // Обзор клин. фармакол. лек. тер. 2005. Т. 4, № 1. С. 21–26.
9. *Петрищев Н.Н., Власов Т.Д.* Физиология и патофизиология эндотелия // Дисфункция эндотелия. Причины, механизмы, фармакологическая коррекция / под ред. Н.Н. Петрищева. СПб., 2003. С. 4–38.
10. *Пруцкова Н.Т., Петров Ю.А.* Электрофизиологическое исследование проекций гиппокампа к нейросекреторным клеткам супраоптического ядра гипоталамуса крысы // Физиол. журнал СССР. 1989. № 3. С.297–303.
11. *Сыромятникова, Н.В., Гочарова В.А., Котенко Т.В.* Метаболическая активность легких. Л.: Медицина, 1987. С.168.

12. *Тараканов И.А., Сафонов В.А.* Нейрогуморальные механизмы некоторых патологических форм дыхания центрального генеза// *Современные аспекты клинической физиологии в медицине: сб. ст. Всерос. науч-практ. конф., посвящ. 110-летию со дня рождения М.В. Сергиевского.* Самара: Волга–Бизнес, 2008. С. 72–77.
13. *Тужилин С.А., Салуэнья А.И.* Метод определения фосфолипазы А в сыворотке крови // *Лабораторное дело.* 1975. № 6. С. 334–335.
14. *Gonzalvo R., Martí-Sistac O., Blanch L., López-Aguilar J.* Bench-to bedside review: Brain-lung interaction in the critically ill - a pending issue revisited // *Crit. Care.* 2007. Vol.11, № 3. P. 216.
15. *Paxinos G., Watson Ch.* The rat brain in stereotaxic coordinates. Sydney: Academic Press, 1998. 474 p.
16. *Phillips, L.L., Reeves T.M.* Interactive pathology following traumatic brain injury modifies hippocampal plasticity // *Restor. Neurol. Neurosci.* 2001. Vol. 19, № 3-4. P. 213–235.
17. *Schwartz-Bloom, R.D., Sah R.* Y-Aminobutyric acidA neurotransmission and cerebral ischemia // *J. Neurochem.* 2001. Vol. 77, № 2. P. 353–371.

THE ROLE OF GABA-ERGIC MEDIATOR SYSTEM IN REALISATION HIPPOCAMPAL INFLUENCES ON THE METABOLIC LUNG'S FUNCTIONS

S.A. Lukina, M.R. Timofeeva, E.V. Volkova

Izhevsk State Medical Academy

Experiments were carried out on rats for the purpose of study of surfactant lipid metabolism, blood capacity of lung, water balance and hemostasis controlling lung function in the formation of the source of pathological activity in the dorsal hippocamp, combined with intracerebral introduction of GABA into the lateral ventricle of the brain. It was found that in terms of increased activity of GABA-ergic mediation, the phenomenon of endothelial dysfunction in the system of the pulmonary circulation eliminates, pulmonary blood supply is restored, modified by dysfunction of the limbic brain structures, while maintaining disregulation disorders in the surfactant system and lungs' water balance.

Keywords: *surfactant lipid metabolism, intracerebral introduction of GABA, limbic brain structures.*

Об авторах:

ЛУКИНА Светлана Александровна—доктор медицинских наук, доцент кафедры патофизиологии, ГБОУ ВПО «Ижевская государственная медицинская академия», 426034, Ижевск, ул. Коммунаров, д. 281, e-mail: saluk@mail.ru

ТИМОФЕЕВА Марина Рудольфовна—кандидат медицинских наук, доцент кафедры патофизиологии, ГБОУ ВПО «Ижевская государственная медицинская академия», 426034, Ижевск, ул. Коммунаров, д. 281, e-mail: martim18@yandex.ru

ВОЛКОВА Елена Владимировна—аспирант кафедры патофизиологии, врач-клинический фармаколог, БУЗ УР «ГБ № 3 МЗ УР», ГБОУ ВПО «Ижевская государственная медицинская академия», 426034, Ижевск, ул. Коммунаров, д. 281, e-mail: volcs-forever@mail.ru