

УДК 612.398.192; 616.24.008; 616.092.4

## ЛИПИДЫ СУРФАКТАНТА И ВОДНЫЙ БАЛАНС ЛЕГКИХ ПРИ ПОВЫШЕНИИ ЦЕРЕБРАЛЬНОГО УРОВНЯ ГАМК И ГЛУТАМАТА

© 2014 М.Р. Тимофеева, С.А. Лукина, Е.В. Волкова

Ижевская государственная медицинская академия

Поступила в редакцию 09.12.2014

Проведено исследование липидов сурфактанта и водного баланса легких при микроинъектировании в ливор бокового желудочка мозга ГАМК или L-глутамата. Установлено, что активация ГАМКергической системы приводила к угнетению синтеза и фракционному дисбалансу альвеолярных липидов, снижению поверхностной активности сурфактанта на фоне интенсификации процессов фосфолипазного гидролиза и кровенаполнения легких. Активация глутаматергической нейромедиации сопровождалась увеличением продукции фосфолипидов в условиях снижения процессов их катаболизма с сохранением поверхностно-активных свойств сурфактанта в сочетании с гипогидратацией легочной ткани.

Ключевые слова: сурфактант, водный баланс, легкие, ГАМК, глутамат

Одним из основных условий обеспечения интегративной и регуляторной деятельности мозга является наличие оптимального баланса нейромедиаторов, нарушение которого приводит к развитию дизрегуляторной патологии. Наиболее часто изменение нейрональной активности наблюдается при дисбалансе тормозных и возбуждающих нейротрансмиттеров –  $\gamma$ -амино-мас-ляной кислоты (ГАМК) и L-глутаминовой кислоты (глутамат, Glu), поскольку как ГАМК-, так и глутаматергические ионотропные (ГАМК<sub>A</sub>, ГАМК<sub>C</sub>, iGluR) и метаботропные (ГАМК<sub>B</sub>, mGluR) рецепторы широко представлены на структурах мозга [7,10]. Дисбаланс медиаторов и изменение содержания ГАМК и глутамата в синаптической щели и ливоре наблюдается при ишемическом инсульте, черепно-мозговой травме, эпилепсии, реперфузии мозга. Дизрегуляторные расстройства при этом проявляются нарушениями различных висцеральных функций организма, в том числе изменением режима вентиляции легких и формированием патологических паттернов дыхания [3, 6]. Вместе с тем биомеханика дыхания и эффективность вентиляции во многом зависят от состояния сурфактантной системы и водного баланса легких [1, 8]. Наряду с газообменными, не газообменными функциями легких также могут изменяться в условиях нейромедиаторного дисбаланса. Для подтверждения этой гипотезы были проведены исследования метаболизма липидов сурфактанта, его поверхностной активности, водного баланса легких при повышении церебрального уровня ГАМК и глутамата.

**Методика исследования.** Исследования выполнены на половозрелых нелинейных крысах-

*Тимофеева Марина Рудольфовна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры патофизиологии. E-mail: martim18@yandex.ru*

*Лукина Светлана Александровна, доктор медицинских наук, профессор кафедры патофизиологии. E-mail: saluk@mail.ru*

*Волкова Елена Владимировна, аспирантка*

самцах с соблюдением принципов Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным. Крысам, наркотизированным этаминалом натрия (в/брюшинно, 50 мг/кг), выполняли операцию вживления канюль в боковой желудочек мозга через трепанационное отверстие по стереотаксическим координатам: P=0,8; L=1,5; V=3,6 [9]. Дисбаланс нейромедиаторов моделировали у одной группы крыс (n=9) посредством интравентрикулярных микроинъекций раствора ГАМК (Acros) через имплантированную канюлю в дозе 20 мкМ в 5 мкл 0,9% раствора натрия хлорида, другой группе (n=8) - раствора L-глутамата (Fluka) в дозе 10 мкМ. Введение осуществляли через день в течение 14 дней. Контролем служили животные с церебровентрикулярным инъектированием эквивалентного объема изотонического раствора хлорида натрия (n=8). Гистологически контролировали трек микроканюль.

На 14 день от начала эксперимента получали бронхо-альвеолярные смывы (БАС), промывая легкие изотоническим раствором натрия хлорида. Определяли их поверхностную активность методом отрыва вертикальной пластинки в динамике сжатия и растяжения площади мономолекулярной пленки на поверхности БАС в тефлоновой кювете (метод Вильгельми). Исходя из величин минимального и максимального поверхностного натяжения, рассчитывали индекс стабильности (ИС) по J.Clements. Липиды экстрагировали смесью Блюра для определения количества фосфолипидов (ФЛ) и холестерина (Хол). О процессах катаболизма судили по активности фосфолипазы A<sub>2</sub>. Оценку водного баланса легких проводили гравиметрическим методом. Исследовали содержание гемоглобина в крови и легочной ткани гемиглобинцианидным методом; измеряли массу сердца, влажных и высушенных легких, с последующим расчетом общей, экстраваскулярной жидкости и кровенаполнения легких. Статистический анализ выполнен на основе программы SPSS 17 for Windows. Характер распределения выборки оценивали критерием

Шапиро-Уилка. Сравнение параметров проводили непараметрическим U-критерием Манна-Уитни. Зависимость между показателями устанавливали коэффициентом корреляции Спирмена ( $r_s$ ). Результаты представлены в виде медианы, нижнего и верхнего квартиля (Median,  $Q_1$ -  $Q_3$ ). Статистически достоверным считали уровень значимости  $p < 0,05$ .

**Результаты исследования.** Исследования показали, что многократное введение ГАМК в боковой желудочек мозга сопровождалось уменьшением на 47% содержания фосфолипидов [ $Z = -3,08$ ;  $p = 0,002$ ] и на 43% – холестерина [ $Z = -2,21$ ;  $p = 0,03$ ] в БАС по сравнению с ложнооперированными животными (табл. 1). Соотношение фракций не изменилось и коэффициент ФЛ/Хол соответствовал контролю [ $Z = -0,34$ ;  $p = 0,74$ ]. Процессы катаболизма выстилающего комплекса альвеол характеризовались высокой активностью фосфолипазы  $A_2$  [ $Z = -3,46$ ;  $p = 0,001$ ], участвующей в гидролизе основного фосфолипидного субстрата легочного сурфактанта – фосфатидилхолина. Известно, что активация фосфолипазы  $A_2$  приводит к повышению доли лизофосфолипидов, обладающих детергентными свойствами, с чем могло быть связано ухудшение поверхностно-активных свойств альвеолярной выстилки, проявившееся в увеличении минимального поверхностного натяжения [ $Z = -3,51$ ;  $p = 0,001$ ] и понижении индекса стабильности альвеол [ $Z = -3,58$ ;  $p = 0,001$ ]. Ещё одним подтверждением качественного и количественного дисбаланса

явилась инверсия корреляционной связи фосфолипидов и минимального поверхностного натяжения, которая в опыте стала положительной ( $r_s = 0,81$ ;  $p < 0,01$ ). При анализе показателей водного баланса выявлено увеличение органного кровенаполнения [ $Z = -2,11$ ;  $p = 0,03$ ] без изменения содержания общей и внесосудистой жидкости в легочной ткани ( $p > 0,05$ ).

При изучении легочного сурфактанта в условиях введения L-глутамата в боковой желудочек мозга было установлено, что в составе БАС содержание фосфолипидов увеличилось на 51% относительно контроля [ $Z = -2,73$ ;  $p = 0,006$ ]. Количество Хол не изменилось [ $Z = -1,68$ ;  $p = 0,09$ ]. Активность фосфолипазы уменьшилась [ $Z = -3,36$ ;  $p = 0,001$ ]. Увеличение продукции липидов сурфактанта сопровождалось снижением и минимального [ $Z = -2,17$ ;  $p = 0,03$ ] и максимального поверхностного натяжения смывов [ $Z = -3,30$ ;  $p = 0,001$ ]. При этом величина индекса стабильности альвеол соответствовала контрольным значениям [ $Z = -0,09$ ;  $p = 0,92$ ]. Сохранилась направленность и величина связи индекса стабильности с минимальным поверхностным натяжением ( $r_s = -0,73$ ;  $p < 0,05$ ). В водном балансе наблюдалась гипогидратация легочной ткани с уменьшением содержания общей жидкости [ $Z = -2,63$ ;  $p = 0,001$ ] и жидкости экстраваскулярного сектора [ $Z = -2,63$ ;  $p = 0,001$ ] без изменения уровня органного кровенаполнения ( $p > 0,05$ ).

**Таблица 1.** Показатели сурфактанта и водного баланса легких при церебровентрикулярном введении ГАМК и L-глутамата

Показатели	Контроль (n=8) Median ( $Q_1$ - $Q_3$ )	ГАМК (n=9) Median ( $Q_1$ - $Q_3$ )	L-глутамат (n=8) Median ( $Q_1$ - $Q_3$ )
фосфолипиды, мкмоль/г	161,04 (136,5-185,1)	86,10 (76,2-132,7)**	243,86 (199,4-304,3)**
Хол, мкмоль/г	68,08 (42,2-76,2)	39,22 (23,3-53,7)*	79,95(61,2-118,9)
ИС, усл. ед.	0,68 (0,66-0,72)	0,54 (0,52-0,57)**	0,71 (0,65-0,73)
фосфолипаза, Ед	29,42 (28,5-31,9)	84,32 (71,8-113)**	5,71 (5,15-8,9)**
общая жидкость, %	98,75 (96,7-121,1)	107,36 (94,8-115)	83,75 (73,9-90)**
кровенаполнение, %	5,82 (5,40-7,24)	9,51 (7,06-12,31)*	5,18 (4,94-6,62)

Примечание: n–количество крыс; \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ –по сравнению с контролем

**Обсуждение результатов.** Анализ результатов позволил установить, что нейромедиаторный дисбаланс, индуцированный многократным введением ГАМК или L-глутамата в ликвор бокового желудочка мозга, сопровождался разнонаправленными изменениями метаболизма липидов сурфактанта и водного баланса легких. При активации ГАМКергической системы дизрегуляторные расстройства проявились угнетением синтеза и фракционным дисбалансом липидов, снижением поверхностной активности сурфактанта на фоне интенсификации процессов фосфолипазного гидролиза, а также повышением кровенаполнения легких. Активация глутаматергической нейромедиации сопровождалась увеличением продукции фосфолипидов в условиях снижения процессов их катаболизма с сохранением поверхностно-активных свойств сурфактанта, гипогидратацией легочной ткани.

Результаты многочисленных исследований свидетельствуют о наличии многозвенной системы регуляции сурфактанта и водного баланса легких при участии лимбико-диэнцефальных и стволовых структур мозга, гормональных механизмов контроля. Выявлены структуры, оказывающие преимущественно активирующее влияние на продукцию липидов сурфактанта легких (передние ядра гипоталамуса, переднее кортикальное ядро амигдалы), а также структуры, ограничивающие синтез альвеолярных фосфолипидов (латеральное гипоталамическое поле, вентро-медиальный гипоталамус, ядра солитарного тракта). Установлены структуры мозга, разнонаправленно изменяющие степень гидратации легких (преоптическое ядро гипоталамуса, дорсальный гиппокамп, центральное ядро амигдалы, синее пятно, ядра вагосолитарного комплекса)[1, 2, 4]. Введение ГАМК

или L-глутамата в боковой желудочек мозга с дальнейшим их транспортом в 3-й, а затем в 4-й желудочки, обеспечивает последовательную диффузию и взаимодействие нейромедиаторов с нейронами гиппокампа, таламуса, гипоталамуса, синего пятна, ядер блуждающего нерва, с последующим изменением их нейрональной активности. Все структуры иерархической системы нейрогуморального контроля негемообменных функций легких имеют ГАМК-и глутаматергические ионотропные (ГАМК<sub>A</sub>, ГАМК<sub>C</sub>, iGluR) и метаботропные (ГАМК<sub>B</sub>, mGluR) рецепторные сайты. Вероятно, в условиях дисбаланса медиаторов нарушается взаимодействие структур мозга, формируются новые клеточные ансамбли, изменяется характер эффекторных нейрогенных и гормональных влияний на легочную ткань с последующей перестройкой метаболизма альвеолярных липидов и водного баланса легких. Изменение ритмогенеза дыхания и объема легочной вентиляции в условиях медиаторного дисбаланса также может повлиять на состояние сурфактанта за счет изменения уровня его базальной секреции и легочного кровотока [5].

**Выводы:** проведенные экспериментальные исследования позволили подтвердить гипотезу об изменениях исследуемых негемообменных функций легких в условиях нейрогуморального дисбаланса. Установлено, что повышение церебрального уровня ГАМК сопровождается уменьшением синтеза липидов сурфактанта, снижением его поверхностной активности, а активация глутаматергической системы – увеличением продукции поверхностно-активных липидов на фоне гипогидратации легких.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Крючкова, В.И. Очерки по нейрогуморальной регуляции дыхательной и пищеварительной систем / В.И. Крючкова, Я.М. Вахрушев. – Ижевск, 1993. 138 с.
2. Лукина, С.А. Роль Гамкергической медиаторной системы в реализации гиппокампальных влияний на метаболические функции легких / С.А. Лукина, М.Р. Тимофеева, Е.В. Волкова // Вестник Тверского гос. университета. Серия «Биология и экология». 2013. Вып. 29, № 2. С. 167-175.
3. Сафонов, В.А. Человек в воздушном океане. – М.: Национальное обозрение, 2006. 215 с.
4. Тель, Л.З. Центральные нервные механизмы отека легких / Л.З. Тель, С.П. Лысенков. – Алма-Ата: Казахстан, 1989. 238 с.
5. Andreeva, A.V. Regulation of surfactant secretion in alveolar type II cells / A.V. Andreeva, M.A. Kutuzov, T.A. Voyno-Yasenetskaya // Am. J. Physiol. Lung Cell Mol Physiol. 2007. Vol. 93, №2. P. 259-271.
6. Cinelli, E. GABAergic and glycinergic inputs modulate rhythmogenic mechanisms in the lamprey respiratory network / E. Cinelli, D. Mutolo, B. Robertson et al. // J. Physiology. 2014. Vol. 592, №8. P. 1823-1838.
7. Collin, M. Plasma membrane and vesicular glutamate transporter mRNAs/proteins in hypothalamic neurons that regulate body weight / M. Collin, M. Bäckberg, M.L. Ovesjö et al. // Eur. J. Neurosci. 2003. Vol. 18, №5. P. 1265-1278.
8. Nkadi, P.O. An overview of pulmonary surfactant in the neonate: genetics, metabolism, and the role of surfactant in health and disease / P.O. Nkadi, T.A. Merritt // Mol. Genet. Metab. 2009. Vol. 97, №2. P. 95-101.
9. Paxinos, G. The rat brain in stereotaxic coordinates / G. Paxinos, Ch. Watson. – Sydney, Acad. Press, 1998. 482 p.
10. Semyanov, A.V. Diffusional extrasynaptic neurotransmission via glutamate and GABA // Neuroscience and behavioral physiology. 2005. Vol. 35, №3. P. 253-266.

## SURFACTANT LIPIDS AND LUNGS WATER BALANCE AT INCREASE OF GABA AND GLUTAMATE CEREBRAL LEVEL

© 2014 M.R. Timofeeva, S.A. Lukina, E.V. Volkova

Izhevsk State Medical Academy

Research of surfactant lipids and water balance of lungs at microinjections of GABA or L-glutamate in liquor of brain lateral ventricle is conducted. It is established that activation of GABAergic system led to oppression of synthesis and fractional imbalance of alveolar lipids, decrease in superficial activity of surfactant against intensification of phospholipase hydrolysis processes and blood supply of lungs. Activation of glutamatergic neuromediation was followed by increase in production of phospholipids in the conditions of decrease in processes of their catabolism with preservation of surface-active properties of surfactant in combination with hydropenia of pulmonary tissue.

Key words: *surfactant, water balance, lungs, GABA, glutamate*

---

Marina Timofeeva, Candidate of Medicine, Associate Professor at the Pathophysiology Department. E-mail: martim18@yandex.ru  
Svetlana Lukina, Doctor of Medicine, Professor at the Pathophysiology Department. E-mail: saluk@mail.ru  
Elena Volkova, Post-graduate Student