

На правах рукописи

ЛУЖБИНА РОЗА ВАЛЕРЬЕВНА

**ДИЗРЕГУЛЯТОРНЫЕ НАРУШЕНИЯ НЕГАЗООБМЕННЫХ ФУНКЦИЙ
ЛЕГКИХ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО
МОЗГА И ИХ КОРРЕКЦИЯ**

3.3.3. Патологическая физиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

ЕКАТЕРИНБУРГ – 2023

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Ижевская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, доцент

Лукина Светлана Александровна

Официальные оппоненты:

Власова Татьяна Ивановна – доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой нормальной и патологической физиологии федерального государственного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П.Огарёва» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации

Ершов Антон Валерьевич – доктор медицинских наук, профессор кафедры патологической физиологии института биодизайна и моделирования сложных систем научно-технологического парка биомедицины федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр неврологии» (г. Москва)

Защита состоится «12» сентября 2023 г. в « » часов на заседании совета по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук 21.2.074.03, созданного на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 620028, г. Екатеринбург, ул. Репина, д. 3.

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в библиотеке им. В.Н. Климова ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России по адресу: 620028, г. Екатеринбург, ул. Ключевская, 17, на сайте университета www.usma.ru, а также на сайте ВАК при Минобрнауки России: vak.minobrnauki.gov.ru.

Автореферат разослан « _____ » _____ 2023г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
д.м.н, профессор

В.В. Базарный

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования и степень её разработанности

В настоящее время цереброваскулярная патология представляет собой серьёзную медико-социальную проблему, что обусловлено прогрессирующим ростом заболеваемости, смертности и инвалидизации пациентов с острыми нарушениями мозгового кровообращения, в том числе, среди лиц трудоспособного возраста (Пирадов М.А. с соавт., 2020; Иванов Е.В. с соавт., 2021; Virani S.S. et al., 2020). Помимо инсультов, транзиторные нарушения мозгового кровотока наблюдаются при кардиохирургических операциях в условиях искусственного кровообращения, что оказывает существенное влияние на качество жизни пациентов и витальный прогноз послеоперационного периода (Okada K., 2017).

В структуре сосудистых заболеваний мозга лидирующую позицию занимают ишемические варианты инсультов, на долю которых приходится до 80% от общего их числа (Гусев Е.И., Скворцова В.И., 2001; Roth G.A. et al., 2020; Virani S.S et al., 2020). По данным статистики ежегодно в России регистрируется более 450 тысяч случаев острого нарушения мозгового кровообращения, а смертность в остром периоде инсульта, в течение первых 21 суток, достигает 35% (Сон А.С. с соавт., 2010; Силина Е.В. с соавт., 2016; Макаров А.О. с соавт., 2018). В случае обширных ишемических повреждений мозга в каротидном бассейне летальность возрастает до 60% в течение первого года постинсультного периода (Пирадов М.А. с соавт., 2020).

Частой причиной смерти пациентов в острый период нарушения мозгового кровообращения является патология системы внешнего дыхания с развитием нейрогенного отека легких, органного ДВС-синдрома, застойной пневмонии, тромбоэмболии легочной артерии, инфекционно-воспалительных процессов (Ершов В.И. с соавт., 2016; Силина Е.В. с соавт., 2016; Никонов В.В. с соавт., 2019; Bellani G. et al., 2018). На долю инфекционных осложнений ишемических инсультов приходится 20,3% летальных исходов, лидирующая позиция среди которых принадлежит пневмониям (Сергеев Д.В. с соавт., 2018; Чипова Д.Т. с соавт., 2020; Suda S. et al., 2018; Westendorp W.F. et al., 2022).

Комплексные исследования, проведенные Лукашевым К.В. с соавт. (2017), позволили установить особенности изменений газообменной функции легких в условиях ишемического поражения мозга. Вместе с тем, многочисленные экспериментальные исследования и клинические наблюдения свидетельствуют о преимущественном первичном нарушении негазообменных функций легких в условиях патологии, с последующими расстройствами газообмена и развитием дыхательной недостаточности (Мурадов А.М. с соавт., 2016; Сергеев Д.В. с соавт., 2018; Зиновьев С.В. с соавт. 2020; Чипова Д.Т. с соавт., 2020). В литературе известны единичные работы, отражающие состояние сурфактантной системы, водного баланса легких при ишемических и геморрагических инсультах (Тимофеева М.Р., Лукина С.А., 2017; Уракова М.А., 2021). Однако сравнительного комплексного анализа негазообменных функций легких с определением приоритетных направлений их расстройств и степени интеграции в динамике ишемического поражения головного мозга ранее в экспериментальных исследованиях не проводилось.

Важным направлением медицинских исследований остается поиск эффективных способов терапии ишемии мозга и вызванных ею осложнений. Практика ведения больных

ишемическим инсультом основана на применении реперфузии, направленной на восстановление мозгового кровотока, и проведении комплексных мероприятий с целью нейропротекции и активации эндогенных механизмов защиты в ответ на длительный ишемический стимул (Янишевский С.Н. с соавт., 2017; Боголепова А.Н., 2020; Liu J. et al., 2021). В экспериментальной медицине проводятся исследования метаболизма нейронов при реперфузии головного мозга, механизмов его реперфузионного повреждения, оценивается эффективность адаптивного феномена цитопротекции в условиях ишемического посткондиционирования и при использовании различных моделей прекодиционирования, обеспечивающих повышение толерантности мозга к последующей тяжелой ишемии (Чефранова Ж.Ю. с соавт., 2019; Новиков В.Е. с соавт., 2020; Щербак Н.С. с соавт., 2020; Ding Z.M. et al., 2012; Li S. et al., 2017). Однако исследования висцеральных функций, в том числе негазообменных функций легких, в условиях активации эндогенных механизмов нейропротекции и при реперфузионном повреждении мозга, весьма малочисленны. Тем не менее, дальнейшее изучение эффектов и механизмов пре- и посткондиционирования головного мозга будет способствовать пониманию процессов адаптации организма к повреждающим факторам, а также разработке мер профилактики вторичных осложнений при ишемии мозга.

Цель исследования

Установить механизмы нарушений негазообменных функций легких в динамике неполной глобальной ишемии мозга, оценить эффективность прекодиционирования и постишемического восстановления церебрального кровотока в коррекции их дизрегуляторных расстройств.

Задачи исследования

1. Оценить состояние сурфактантной системы, водного баланса, гемостаз-корректирующей активности легких в ранние (первые сутки) и отдаленные сроки (10 сутки, 21 сутки) неполной глобальной ишемии мозга.
2. Определить особенности состояния негазообменных функций легких в острейший период ишемии головного мозга (3 часа) и в условиях восстановления мозгового кровотока (3 часа, первые сутки) в режиме реперфузии и посткондиционирования.
3. Провести сравнительный анализ эффективности фармакологического и гипоксического прекодиционирования головного мозга в обеспечении негазообменных функций легких при неполной глобальной ишемии головного мозга.

Научная новизна

Выявлены особенности патогенеза нарушений негазообменных функций легких в динамике ишемического поражения мозга. Установлено, что приоритетное значение в развитии дизрегуляторных расстройств принадлежит нарушению контроля водного баланса легких с увеличением органного кровенаполнения в ранние сроки ишемии и нарастанием гипергидратации легочной ткани с увеличением объема экстраваскулярной жидкости к 21

дню нарушения мозгового кровообращения. Показано, что изменения водного баланса легких сопряжены с прогрессивным нарастанием активности фосфолипазы и перекисного окисления липидов и сопровождаются прогрессирующим снижением поверхностной активности выстилающего комплекса альвеол и угнетением функциональной активности клеточных факторов врожденного иммунитета. Установлен высокий коагуляционный потенциал крови в системе малого круга кровообращения в динамике ишемии мозга в сочетании с угнетением её фибринолитической активности в ранние сроки ишемии (первые сутки) с последующим повышением фибринолитического потенциала к 21 суткам исследования.

Установлено, что нарушения негазообменных функций легких в острейшую фазу ишемии головного мозга и первые часы ишемии/реперфузии, ишемии/посткондиционирования носят односторонний характер и проявляются нарушениями гемостаз-корректирующей активности легких с повышением коагуляционного и снижением фибринолитического потенциала крови, сопряженными с интенсификацией процессов перекисного окисления липидов в легочной ткани. Выявлено, что в динамике постишемического восстановления кровотока в режиме реперфузии и посткондиционирования ухудшаются поверхностно-активные свойства выстилающего альвеолярного комплекса с усугублением дисрегуляции системы гемостаза в условиях посткондиционирования и её оптимизацией в ранний (через сутки) реперфузионный период ишемии мозга.

Получены новые данные, свидетельствующие об особенностях изменений негазообменных функций легких при использовании различных режимов прекодиционирования. Установлено, что в условиях гипоксического прекодиционирования сохраняется низкая поверхностная активность сурфактанта легких, инициированная ишемией мозга, с одновременным уменьшением кровенаполнения легких. Дисрегуляция системы гемостаза характеризуется оптимизацией коагуляционного потенциала крови и более выраженным угнетением её фибринолитической активности, на фоне уменьшения интенсивности свободно-радикальных процессов в легочной ткани. Показана эффективность применения фармакологического прекодиционирования при ишемии мозга с оптимизацией поверхностной активности сурфактанта легких, уменьшением коагуляционного и повышением фибринолитического потенциала крови в системе легочного кровообращения с восстановлением прооксидантной активности легочной ткани.

Теоретическая и практическая значимость работы

Совокупность выявленных данных имеет значение для понимания роли расстройств негазообменных функций легких в патогенезе нарушений системы внешнего дыхания у пациентов с ишемическим поражением головного мозга. Полученные результаты расширяют представления о механизмах дисфункции сурфактанта, расстройств водного баланса и нарушений гемостаз-корректирующей активности легких и их взаимосвязи в разные сроки постишемического периода и могут учитываться при ведении больных с нарушением мозгового кровообращения. Материалы исследований, полученные при применении эндогенных способов нейропротекции, раскрывают особенности изменений негазообменных

функций легких при формировании толерантности мозга к ишемическому и реперфузионному его повреждению и могут быть использованы в практике врачей неврологов и нейрохирургов при проведении комплексных мероприятий по профилактике развития дыхательной недостаточности у пациентов с ишемическим поражением мозга. Результаты работы, свидетельствующие об эффективности введения аденозина с целью preconditionирования мозга, открывают путь для оптимизации подходов по фармакологической коррекции расстройств негазообменных функций легких при цереброваскулярной патологии.

Методология и методы исследования

Диссертационная работа, согласно выбранному алгоритму научного исследования, имеет экспериментальный характер и включает получение, стандартизацию, анализ и обобщение результатов. В качестве объекта исследования выступали нелинейные крысы-самцы. С целью изучения влияния ишемического поражения мозга на негазообменные функции легких моделировали неполную глобальную ишемию головного мозга путем необратимой и обратимой перевязки общих сонных артерий. Для оценки эффективности нейропротекции использовали различные режимы восстановления мозгового кровотока и preconditionирования. Наличие зоны ишемического повреждения мозга подтвердили морфологическими методами. Для оценки негазообменных функций легких были проведены биофизические, биохимические, цитологические, гемостазиологические, гравиметрические исследования, а также статистическая обработка результатов.

Исследования были проведены после утверждения протокола на использование лабораторных животных для исследования на заседании комиссии по биомедицинской этике локального этического комитета ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия» Минздрава России (протокол № 514/1 от 25.10.16). Исследования выполнены с использованием базы ресурсов кафедры патологической физиологии и иммунологии ФГБОУ ВО ИГМА Минздрава России.

Положения, выносимые на защиту

1. Ведущим фактором патогенеза расстройств негазообменных функций легких в динамике неполной глобальной ишемии головного мозга является дисрегуляция водного баланса легких с повышением органного кровенаполнения в первые сутки и нарастающей гипергидратацией легких к 21 суткам ишемии мозга. Изменения водного баланса легких сопряжены с ухудшением поверхностно-активных свойств выстилающего комплекса альвеол на фоне прогрессирующего повышения прооксидантной и фосфолипидной активности легочной ткани и сопровождаются нарастающим угнетением фагоцитарной активности альвеолярных макрофагов.

2. Неполная глобальная ишемия головного мозга сопровождается нарушением гемостаз-корректирующей функции легких с повышением коагуляционного потенциала крови в системе малого круга кровообращения на фоне угнетения системы фибринолиза в ранние сроки ишемии (3 часа, первые сутки) с последующей её активацией в отдаленный период (10 суток, 21 сутки).

3. Восстановление церебрального кровотока в режиме ишемии/реперфузии и ишемии/посткондиционирования характеризуется сохранением высокой прокоагулянтной активности крови, индуцированной ишемией головного мозга. Различные режимы постишемического восстановления кровотока через сутки сопровождаются однотипными изменениями сурфактантной системы легких с уменьшением продукции фосфолипидов и снижением поверхностной активности выстилающего комплекса альвеол, на фоне нарастающей гипергидратации легких в условиях ишемии/реперфузии.

4. Фармакологическое прекондиционирование с использованием аденозина проявляется оптимизацией поверхностно-активных свойств сурфактанта легких на фоне уменьшения коагуляционного и повышения фибринолитического потенциала крови, восстановления про- и антиоксидантной активности легочной ткани. Нарушения в системе сурфактанта легких, индуцированные ишемией мозга, сохраняются в условиях гипоксического прекондиционирования, с оптимизацией коагуляционного потенциала крови, угнетением системы фибринолиза и уменьшением прооксидантной активности легочной ткани.

Достоверность полученных результатов, личный вклад соискателя

Достоверность полученных научных данных и выводов основана на достаточном объеме проведенных исследований, использовании методов, адекватных поставленным целям и задачам. Автор непосредственно принимал личное участие в организации и проведении экспериментальных исследований, включая статистическую обработку и анализ полученных результатов на основе программы Statistica 6.0, SPSS 19 for Windows, отраженных в опубликованных статьях. Самостоятельно им проанализирована литература по теме диссертационного исследования и единолично написана диссертация.

Апробация результатов

Материалы диссертации обсуждены и представлены на X и XI Международном Междисциплинарном конгрессе «Нейронаука для медицины и психологии» (Судак, 2014; 2015), VI Международном молодежном медицинском конгрессе «Санкт-Петербургские научные чтения – 2015» (Санкт-Петербург, 2015), III Всероссийском научном медицинском форуме студентов и молодых ученых с международным участием «Белые цветы» (Казань, 2016), 81-й Всероссийской молодежной научной конференции с международным участием «Вопросы теоретической и практической медицины» (Уфа, 2016), II Международной (72 Всероссийской) научно-практической конференции молодых ученых и студентов, 3-м Всемирном конгрессе «Controversies in Trombosis and Hemostasis» (Москва, 2016), II Всероссийском форуме медицинских и фармацевтических вузов «За качественное образование» (Екатеринбург, 2017), 6-й научно-практической конференции молодых ученых и специалистов «Трансляционная медицина от теории к практике» (Санкт-Петербург, 2018), III Международной научно-практической конференции «Экспериментальные и клинические аспекты микроциркуляции и функции эндотелия» (Смоленск, 2018), V Всероссийской научно-практической конференции с международным участием молодых ученых, аспирантов и студентов «Актуальные проблемы медико-биологических дисциплин»

(Саранск, 2021), XVIII Международном Междисциплинарном конгрессе «Нейронаука для медицины и психологии» (Судак, 2022), Международной научной конференции «Физиологические и структурные механизмы адаптации к экстремальным условиям» (Бишкек, 2022).

Внедрение в практику

Результаты диссертационной работы внедрены в практическую деятельность Регионального сосудистого центра бюджетного учреждения здравоохранения Удмуртской Республики "Первая республиканская клиническая больница Министерства здравоохранения Удмуртской Республики». Данные о нарушениях негемообменных функций легких в динамике неполной глобальной ишемии мозга, в режиме реперфузии и посткондиционирования, а также феномена гипоксического и фармакологического прекодиционирования включены в учебные материалы на кафедрах ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия» Минздрава России: патологической физиологии и иммунологии, неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 3.3.3 – патологическая физиология. Результаты проведенного экспериментального исследования соответствуют пунктам 3,4,5 паспорта области исследования.

Публикации

По материалам диссертации опубликованы 22 научные работы, в том числе 7 статей в изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертации.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 3 глав результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций. Работа изложена на 191 странице, включает список литературы из 117 отечественных источников и 141 иностранного источника, 32 рисунка и 22 таблицы.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность темы диссертационного исследования, определены и сформулированы цель, задачи, научная новизна, практическая и теоретическая значимость работы, положения, выносимые на защиту.

В первой главе представлен анализ контента современной научной литературы по теме диссертации. Описаны негемообменные функции легких: компоненты, функции и механизмы регуляции сурфактантной системы легких, участие легких в обеспечении водного баланса и их гемостаз-корректирующая функция. Основная часть главы посвящена описанию патохимии головного мозга при его ишемическом повреждении и дисрегуляторным

расстройствам при церебральной ишемии, также проанализированы методы нейропротекции при ишемии мозга и дана всесторонняя характеристика феноменам пре- и посткондиционирования.

Вторая глава включает описание материалов и методов исследования. Объекты исследования: нелинейные белые половозрелые крысы-самцы с исходной массой тела 200-220г. Экспериментальный протокол: исследования выполнены на 236 животных, в осенне-зимний период, в первой половине дня; крыс наркотизировали внутрибрюшинным введением золетила 100 (Virbac, Франция) в дозе 5-6 мг/кг (Рисунок 1). Содержание и уход за животными, оперативные вмешательства осуществляли в соответствии с приказом Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 23 августа 2010 г. N 708н "Об утверждении Правил лабораторной практики".

Третья, четвертая и пятая главы диссертационной работы посвящены описанию полученных результатов. Главы иллюстрированы таблицами.

Шестая глава диссертации включает обсуждение полученных результатов, рисунки и таблицу. В заключении представлены выводы и практические рекомендации.

Экспериментальные модели ишемии головного мозга, ишемии/реперфузии, пре- и посткондиционирования

Модель неполной глобальной ишемии головного мозга. Моделирование ишемии мозга осуществляли посредством билатеральной окклюзии общих сонных артерий (ОСА) (Щербак Н.С., Галагудза М.М., 2011; Vass K. et al., 1988). Перед операцией животных наркотизировали внутрибрюшинным введением золетила 100 (Virbac, Франция) в дозе 5-6 мг/кг, операционное поле обрабатывали антисептиком. Доступ к ОСА осуществлялся через срединный разрез по передней поверхности шеи. Под грудинно-ключично-сосцевидной мышцей находили сосудисто-нервный пучок, орошали его 2% раствором лидокаина, выделяли ОСА без прикосновения к блуждающему нерву, подводили под нее лигатуру и необратимо перевязывали, затем рану послойно ушивали. Животных выводили из эксперимента через 3 часа, 1 сутки, 10 суток и 21 сутки после ишемии мозга и далее проводили комплекс исследований негазообменных функций легких. Для макроскопической визуализации зоны ишемического некроза изготавливали фронтальные срезы мозга на криостат-микротоме Thermo Scientific HM525 NX (UK) с последующим их инкубированием в 1% растворе 2,3,5-трифенилтетразолия хлорида при 37⁰С в течение 15 минут. Морфологические изменения нейронов и прилежащей к ним микроглии в ишемизированных зонах головного мозга оценивали в срезах, окрашенных гематоксилин-эозином.

Модели ишемии/реперфузии и ишемии/посткондиционирования головного мозга. С целью моделирования обратимой глобальной ишемии головного мозга на ОСА с помощью клипатора накладывали микрохирургические сосудистые клипсы (Aescular AG, Германия) на 10 минут с последующей реперфузией. Для посткондиционирования мозга (постК) после 10-минутной обратимой глобальной ишемии 5-кратно чередовали эпизоды ишемии/реперфузии по 15 сек каждый (Щербак Н.С. с соавт., 2015; Wang J. et al., 2008). Исследования проводили через 3 часа и одни сутки после восстановления мозгового кровотока.

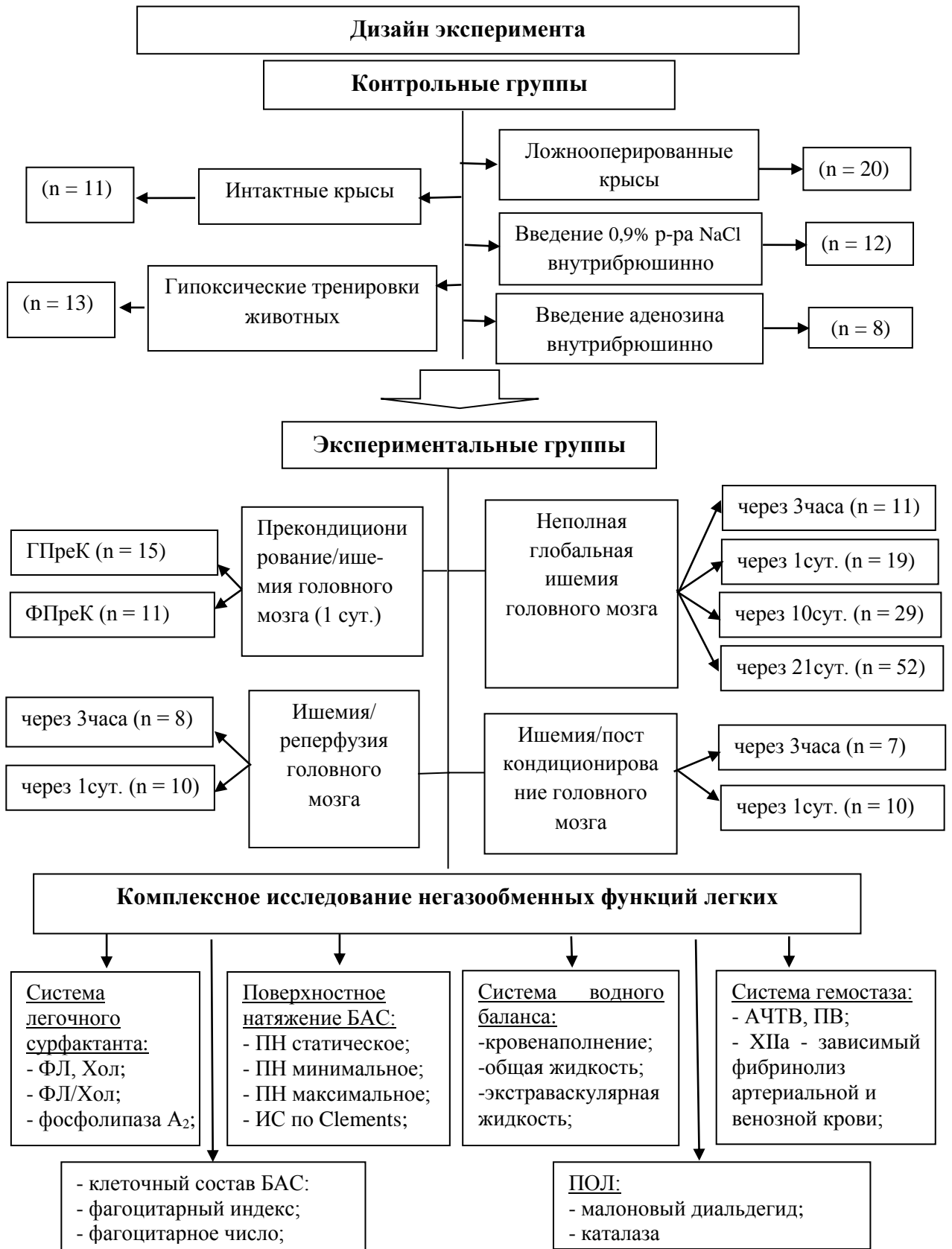


Рисунок 1 – Дизайн экспериментального исследования.

Модели прекондиционирования головного мозга. Для моделирования гипоксического прекондиционирования (ГПреК) использовали 4-х дневные интервальные гипоксические тренировки, ежедневно по четыре 10-минутных эпизода гипоксии и реоксигенации (Вычужанова Е.А., 2014) с последующей окклюзией ОСА билатерально через 24 часа после проведения последней тренировки. Фармакологическое прекондиционирование (ФПреК) осуществляли посредством внутрибрюшинного введения аденозина (Натрия аденозинтрифосфат, Эллара, Россия) в дозе 750 мкмоль/кг за 1 час до окклюзии ОСА (Зарубина И.В., Шабанов П.Д., 2016). Исследования проводили через сутки после необратимой ишемии головного мозга.

Оценку неврологического дефицита у животных проводили после окончания опытов по шкале Stroke-index С.Р. McGraw (1977) в модификации И.В. Ганнушкиной (1996). Летальность крыс вычисляли как отношение количества погибших крыс к общему числу прооперированных в эксперименте.

В качестве контроля выступали интактные ($n = 11$) и ложнооперированные ($n = 20$) животные, крысы после гипоксических тренировок ($n = 13$), внутрибрюшинного введения 0,9% раствора натрия хлорида для инфузий ($n = 12$) и аденозина ($n = 8$).

Методы исследования негазообменных функций легких

Исследования сурфактантной системы легких. После экспериментальных воздействий у наркотизированных крыс выполняли торакотомию, извлекали бронхоальвеолярный комплекс, проводили визуальную оценку легких с последующим приготовлением и исследованием бронхоальвеолярных смывов (БАС). Легкие промывали изотоническим раствором натрия хлорида, получали БАС объемом 28-35 мл, проводили их центрифугирование в режиме 1500 об/мин в течение 7 минут для осаждения клеточных элементов и слизи.

Поверхностную активность БАС определяли методом Вильгельми-Лэнгмюра (Chen Z. et al., 2019). Бронхоальвеолярный смыв помещали в кювету с подвижным барьером для образования мономолекулярного слоя сурфактанта, определяли статическое поверхностное натяжение (ПН_{ст}) путем отрыва пластинки, установленной перпендикулярно поверхности БАС. Затем измеряли минимальное (ПН_{min}) и максимальное (ПН_{max}) поверхностное натяжение в динамике сжатия и растяжения монослоя сурфактанта от 20% до 100% площади кюветы, что в определенной степени отражает динамику акта дыхания. Рассчитывали индекс стабильности альвеол (ИС) по J. Clements, исходя из полученных величин минимального и максимального ПН.

Общие фосфолипиды (ФЛ) в составе сурфактанта определяли путем экстракции липоидного фосфора и минерализации осадка с расчетом фракции ФЛ по уровню неорганического фосфора (Кондрахин И.П. с соавт., 2004). Содержание холестерина (Хол) в БАС оценивали энзиматическим колориметрическим методом (диагностикум Холестерин-11/21/31-Витал, СПб). Вычисляли коэффициент ФЛ/Хол. Активность фосфолипазы А₂ определяли по количеству жирных кислот, отщепившихся в результате фосфолипазного гидролиза (Тужилин С.А. с соавт., 1975).

Клеточный состав БАС и фагоцитарную активность альвеолярных макрофагов оценивали в мазках, окрашенных по Романовскому-Гимзе, с использованием 10% полистирольной суспензии частиц монодисперсного латекса (диаметром 1,5 мкм) в качестве объекта фагоцитоза (Лебедева Е.С. с соавт., 2015).

Методы исследования водного баланса и кровенаполнения легких. Использовали гравиметрический метод Гаг К.А. в модификации А.В. Бобрикова (1999). Содержание гемоглобина в крови и гомогенате легочной ткани (навеска 100 мг) оценивали гемиглобинцианидным методом (Диагем-Т, диагностикум НПО «Ренам», Москва). На основании этих данных, а также веса сердца, влажных и высушенных легких рассчитывали кровенаполнение, содержание общей и экстравазкулярной жидкости в легких.

Методы исследования системы гемостаза. Исследования параметров системы гемостаза проводили в артериальной и венозной крови, полученной путем пункции левых и правых отделов сердца с помощью вакутейнеров (Васильев А.Г. с соавт., 2014), с использованием диагностических наборов реагентов НПО «Ренам» (Москва). На турбодимитрическом гемокоагулометре CGL 2110 «Solar» (Беларусь) серией тестов определяли активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ-тест) и протромбиновое время (ПВ; Тромбопластин, Диагем-П). Фибринолитическую активность крови определяли в тесте ХПа-зависимый фибринолиз. Рассчитывали артерио-венозную разницу по каждому показателю.

Метод определения количества циркулирующих десквамированных эндотелиальных клеток в плазме крови. Использовали методику Sinzinger H. et al. (1988) в модификации Власова Т.Д. (2017).

Методы исследования свободно-радикальных процессов в легких. Определяли содержание вторичных продуктов ПОЛ (малонового диальдегида) в гомогенате ткани легкого с применением набора реагентов «ТБК АГАТ» (Агат-Мед, Москва). Оценивали активность каталазы в легочной ткани (Королюк М.А. с соавт., 1988).

Методы статистического анализа

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью программного обеспечения «Microsoft Excel 2016» и «SPSS 19 for Windows». Нормальность распределения в группах оценивали с помощью критерия Шапиро-Уилка. В случае нормального распределения проверку статистических гипотез в группах осуществляли с использованием t -критерия Стьюдента. Для сравнения данных независимых выборок с отклонением от нормального распределения использовали непараметрический критерий U-Манна-Уитни. При сравнении центральных параметров трех и более экспериментальных групп был использован F- критерий Фишера, критерий Н-Kruskal-Wallis ANOVA. Для анализа распределения случайной величины двух групп использовали критерий хи-квадрат (χ). С целью выявления зависимостей между различными показателями проводили корреляционный анализ. В зависимости от нормальности распределения использовали коэффициент корреляции Пирсона (r) или Спирмена (r_s). Для определения доминирующего компонента и взаимосвязей между значениями переменных проводили факторный анализ полученных параметров. Все данные представлены в виде медианы, межквартильных

интервалов (25 – 75 процентиля) – (Median (Q1 – Q3)) и «средней арифметической и её стандартной ошибки» – ($M \pm m$). Результаты считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Негазообменные функции легких в динамике неполной глобальной ишемии головного мозга. В результате проведенных исследований установлено, что в острейшую фазу ишемии мозга (3 часа) повысился коагуляционный потенциал крови в системе малого круга кровообращения с уменьшением ПВарт на 33% ($p = 0,001$), АЧТВарт на 27% ($p = 0,002$), инверсией коэффициентов АЧТВ арт/вен, ПВ арт/вен ($p = 0,002$), на фоне удлинения времени фибринолиза венозной и артериальной крови ($p = 0,001$). Полагают, что интенсификация оксидативного стресса является одним из основных факторов нарушения реактивности эндотелия с последующим развитием эндотелиальной дисфункции (Васина Л.В. с соавт. 2017; Боголепова А.Н., 2020; Bai B. et al., 2020; Janaszak-Jasiecka A. et al., 2021). Было установлено увеличение содержания МДА в легочной ткани в 2 раза ($p = 0,02$) с одновременным повышением активности каталазы ($p = 0,004$). Наличие прямой корреляционной связи между МДА и временем ХПа-зависимого фибринолиза артериальной крови ($r_s = 0,72$, $p < 0,05$), а также увеличение циркулирующих эндотелиальных клеток как в системном, так и легочном кровотоке ($p < 0,01$) подтверждает развитие стресс-индуцированной эндотелиальной дисфункции с нарушением гемостаз-корректирующей активности легких.

Через сутки после ишемии мозга у выживших животных (летальность 37%) повысилось кровенаполнение легких ($p = 0,009$), в составе сурфактанта на 73% увеличилось содержание ФЛ ($p < 0,01$), что, однако, не обеспечило оптимум его функциональной активности с повышением ПНmin ($p < 0,01$) и уменьшением ИС альвеол ($p < 0,01$) (Таблица 1). Ухудшение поверхностно-активных свойств сурфактанта могло быть обусловлено как высокой активностью фосфолипазы ($p < 0,01$) с образованием лизосоединений, обладающих детергентным влиянием на альвеоло-капиллярную мембрану (Васильева Н.Н. с соавт., 2012), так и нарастающей интенсивностью ПОЛ (Senoner T., 2019), отмечалось увеличение МДА в легочной ткани в 2,9 раз ($p = 0,003$). Явления эндотелиальной дисфункции сохранялись с более значительным повышением коагуляционного потенциала как в системном кровотоке – уменьшение ПВвен на 60% ($p = 0,001$), так и в малом круге кровообращения - уменьшение АЧТВарт на 43% ($p = 0,001$), ПВарт - на 75% ($p = 0,001$), с удлинением времени фибринолиза в артериальном секторе на 63% ($p = 0,001$). Результаты факторного анализа позволили установить, что в структуру ведущего фактора (37,99% от совокупной дисперсии) были включены параметры кровенаполнения ($f = 0,93$), времени фибринолиза арт. ($f = 0,90$), ПНst ($f = 0,89$), ПНmax ($f = 0,85$), МДА ($f = -0,84$). Подобная факторная структура позволяет предположить, что высокое кровенаполнение легких в первые сутки ишемии ($p = 0,001$) не обеспечивало оптимума перфузии легочной ткани, о чем косвенно свидетельствует угнетение системы фибринолиза, повышение коагуляционного потенциала крови и снижение поверхностной активности сурфактанта легких.

Далее в динамике ишемии мозга на 10 сутки и 21сутки эксперимента (летальность животных 45% и 63% соответственно) содержание ФЛ в составе сурфактанта прогрессивно уменьшалось ($p_1 < 0,01$, $p_2 < 0,05$) на фоне сохранения высокой активности фосфолипазы ($p_1 < 0,05$). Изменения метаболизма липидов сопровождалось прогрессирующим повышением ПНmin (p_1 , $p_2 < 0,01$) и снижением интегрального показателя поверхностной активности - ИС альвеол (p_1 , $p_2 < 0,01$). Содержание МДА в легочной ткани возрастало и достигло своего максимума на 21 сутки эксперимента (p_1 , $p_2 < 0,01$). Активность каталазы, напротив, понижалась в динамике исследований ($p_1 < 0,01$) (Таблица 1). Дисбаланс про- и антиоксидантной активности легочной ткани с избыточным образованием свободных радикалов потенцировал сохранение эндотелиальной дисфункции (Иванов А.Н. с соавт., 2020), как и в ранние сроки эксперимента. Это подтверждалось увеличением в циркуляции числа десквамированных эндотелиальных клеток ($p < 0,01$), высоким коагуляционным потенциалом крови в легочном кровотоке с уменьшением ПВарт ($p_1 < 0,01$) и АЧТВарт ($p_1 < 0,01$), а также наличием корреляционных связей между МДА и ПВарт ($r_s = -0,79$; $p < 0,01$). Высокий коагуляционный потенциал крови сохранялся, несмотря на повышение активности системы фибринолиза с уменьшением времени лизиса эуглобулинов в легочном кровотоке на 10 сутки эксперимента ($p_1 < 0,01$) и в системном кровотоке - на 21 сутки исследования ($p_1 < 0,01$), что можно расценивать как результат реализации саногенетических программ. Изменения водного баланса в динамике ишемии мозга характеризовались нарастающей органной гипергидратацией с увеличением общей ($p < 0,01$), экстраваскулярной жидкости ($p < 0,05$) и кровенаполнения легких ($p < 0,01$) к 21 суткам эксперимента.

Результаты факторного анализа подтвердили, что ведущим звеном патогенеза расстройств негазообменных функций легких в условиях ишемии мозга является дисбаланс жидкости в легочной ткани при ключевой роли ПОЛ и фосфолипазного гидролиза в дезорганизации альвеоло-капиллярной мембраны и перераспределении жидкости в экстраваскулярный сектор. Вклад главной компоненты в совокупную дисперсию возрос до 47,92% на 10 сутки и до 52,16% - на 21 сутки эксперимента, что может отражать возрастающую напряженность механизмов контроля легочных функций. В факторной структуре на 10 сутки ишемии максимальные факторные нагрузки имели показатели водного баланса – общая жидкость ($f=0,92$), экстраваскулярная жидкость ($f=0,91$), кровенаполнение легких ($f=0,84$), взаимосвязанные с показателем активности фосфолипазы ($f=0,91$) и ПНst ($f=0,71$). На 21 сутки эксперимента данные взаимосвязи усилились и параметры водного баланса – экстраваскулярная ($f=0,93$) и общая жидкость ($f=0,89$), взаимодействовали в структуре ведущего фактора с показателями активности фосфолипазы ($f=0,81$), ПОЛ ($f=0,70$) и фагоцитарным числом ($f=0,88$). Изменения клеточного состава БАС в динамике ишемии мозга характеризовались уменьшением доли макрофагов ($p < 0,01$) и их фагоцитарной активности с 1 суток до 21суток эксперимента ($p < 0,01$), что свидетельствует об угнетении механизмов органной резистентности и повышении риска развития воспалительных процессов в легочной ткани в отдаленные сроки ишемии (Таблица 1).

Таблица 1– Основные параметры негазообменных функций легких при неполной глобальной ишемии головного мозга (21сут.), (M±m)

Показатели		Ишемия мозга (1 сут.), n = 12		Ишемия мозга (10 сут.), n = 16		Ишемия мозга (21 сут.), n = 19		Контрольная группа n = 20	
		M	±m	M	±m	M	±m	M	±m
Жидкость, %	Общая	115,71	3,13	117,00	2,60	126,53**	5,60	109,30	4,12
	Экстравазкулярная	106,70	3,83	107,61	16,32	117,63*	5,59	102,68	4,13
Кровенаполнение легких, %		9,79**	0,75	8,65	0,71	9,46***#	1,38	7,48	0,33
Фосфолипиды (общие), мкмоль/г		290,30**	27,70	242,18^^	32,90	127,11*^^##	11,2	167,52	7,04
Фосфолипаза (активность), ед.		47,13**	4,91	87,15***^	4,76	73,89***^	6,83	31,76	1,34
ПН min, мН/м		19,60**	0,42	21,20**	0,45	23,09***^^##	0,61	16,82	0,50
ПН max, мН/м		32,40**	0,37	37,60*^^	0,24	33,25*#	0,61	35,79	0,28
Индекс стабильности, усл. ед.		0,46**	0,02	0,58***^^	0,02	0,36***^^##	0,02	0,70	0,02
% макрофагов в БАС		90,00**	1,30	87,80^	1,60	75,70***^^##	2,10	86,00	0,68
Фагоцитарный индекс,%		75,00**	3,50	65,40***^^	1,83	55,60*^^##	2,00	49,63	1,25
Фагоцитарное число, усл. ед.		2,08	0,13	1,60***^^	0,04	1,40***^^	0,05	2,06	0,09
ПВ артер. крови, с		7,90**	0,38	13,08***^	1,21	11,25**	1,82	31,13	2,57
ПВ вен. крови, с		8,20**	0,92	16,66^^	1,01	19,23	2,14	20,36	1,21
ПВ артер/вен. усл.ед.		0,95**	0,11	0,80**	0,07	0,60**	0,07	1,54	0,10
АЧТВ артер. крови, с		19,00**	0,81	25,05*^^	1,64	23,27*##	1,60	33,13	3,08
АЧТВ вен. крови, с		22,50	1,29	26,30***^^	1,97	26,15*^	1,65	19,91	1,44
АЧТВ артер/вен. усл.ед.		0,90**	0,06	1,00**	0,06	0,95**	0,13	1,70	0,19
ХПа-зав. фиб-з артер.крови, мин		15,27**	0,76	8,02*^^	0,58	8,40^^	0,40	9,38	0,19
ХПа-зав. фиб-з вен. крови, мин		14,33	0,63	18,40***^^	0,83	8,29*##	0,60	13,71	0,35
ХПа-зав. фиб-з артер/вен. усл.ед.		1,03**	0,10	0,45*^^	0,06	1,10***##	0,12	0,68	0,01
Каталаза (активность), мМ/мин/г/сух.ост.		16,14**	0,84	10,37^^	1,14	13,73	1,08	11,60	1,35
МДА, мкмоль/г/сух.ост.		0,58**	0,05	1,01***^^	0,19	1,91***^^#	0,13	0,20	0,04

Примечание: n – количество животных; * p <0,05; ** p ≤0,01 – различия статистически значимы по сравнению с контролем; ^ p₁ <0,05, ^^ p₁ ≤0,01 – различия статистически значимы по сравнению с ишемией мозга (1сут.); # p₂ <0,05, ## p₂ ≤0,01 – различия статистически значимы по сравнению с ишемией мозга (10 сут.).

Негазообменные функции легких в условиях реперфузии и посткондиционирования головного мозга. Современные методы ведения больных с ишемическим инсультом предусматривают проведение тромболитической терапии в период «терапевтического окна» для восстановления мозгового кровотока и уменьшения объема поражения ткани головного мозга (Пирадов М.А. с соавт., 2020; Иванов Е.В. с соавт., 2021; Heiss W.D. et al., 2019; Nogueira R.C. et al., 2020). Негативным последствием реперфузии является активация свободно-радикальных процессов и поступление продуктов метаболизма в системный кровоток (Кличханов Н.К. с соавт., 2018; Chomova, M. et al., 2016; Sarkar S. et al., 2019;). Одним из методов уменьшения эффектов реперфузионного повреждения мозга является восстановление кровотока в режиме посткондиционирования (Щербак Н.С. с соавт., 2020; Taskapilioglu M.O. et al., 2009; Zhao H., 2009; Vinciguerra et al., 2018). В связи с этим следующим этапом исследования было изучение негазообменных функций легких через 3 часа и 1 сутки после ишемии/реперфузии и ишемии/постК.

Было установлено, что через 3 часа после ишемии/реперфузии изменения в системе гемостаза, выявленные при острой ишемии мозга, сохранялись, но с более выраженными явлениями гиперкоагуляции, что проявилось укорочением ПВарт ($p, p_1 < 0,01$) и АЧТВарт ($p, p_1 < 0,05$). При этом активность системы фибринолиза, как и при ишемии мозга, была низкой с увеличением времени лизиса эглобулинового сгустка в венозном ($p = 0,008$) и артериальном секторе ($p = 0,004$) (Рисунок 2). В работах Кличханова Н.К. с соавт. (2018) выявлено, что через час после восстановления мозгового кровотока в синаптических окончаниях нейронов увеличивается содержание МДА на 78% и одновременно угнетается антиоксидантная защита клеток вследствие снижения на 69% активности каталазы. В наших исследованиях увеличение МДА активных метаболитов в легочной ткани ($p = 0,02$) также наблюдалось на фоне снижения активности каталазы ($p_1 = 0,004$) с наличием корреляционных связей между МДА и АЧТВарт ($r_s = -0,71, p < 0,05$), ХПа- зависимым фибринолизом и АЧТВарт ($r_s = -0,63, p < 0,05$). Полагают, что одним из ключевых эффекторов нейропротекции в условиях ишемии/постК являются ферменты антиоксидантной защиты, обеспечивающие ограничение активности ПОЛ (Щербак Н.С. с соавт., 2020, Zhao H. et al., 2006). В эксперименте при восстановлении кровотока в режиме ишемии/постК высокий уровень метаболитов липопероксидации в легочной ткани сохранялся ($p = 0,02$), хотя снижения активности каталазы, как при ишемии/реперфузии, не наблюдалось ($p = 0,065$) (Рисунок 2). В системе гемостаза при ишемии/постК отмечался высокий коагуляционный потенциал крови с уменьшением ПВарт ($p, p_1 < 0,01$) и АЧТВарт ($p, p_1 < 0,01$) на фоне угнетения системы фибринолиза ($p < 0,01, p_1 < 0,05$) и корреляционными связями между МДА и параметрами гемостаза: МДА и ПВ арт ($r_s = -0,75, p < 0,05$), МДА и временем ХПа- зависимого фибринолиза арт. ($r_s = 0,80, p < 0,05$).

Таким образом, в раннем постишемическом периоде, независимо от способа восстановления церебрального кровообращения, возрастает коагуляционный потенциал крови в легочном кровотоке, обусловленный преимущественно высокой активностью свободно-радикальных процессов в сочетании с угнетением системы фибринолиза. Согласно литературным данным, продукты липопероксидации обеспечивают не только формирование эндотелиальной дисфункции, но и оказывают деструктивное влияние на легочную ткань с

нарушением поверхностно-активных свойств сурфактанта (Васильева Н.Н. с соавт., 2012; Tibboel J. et al., 2014). Снижение поверхностной активности альвеолярного выстилающего комплекса с уменьшением ИС альвеол ($p = 0,005$, $p_1 = 0,02$) были отмечены нами через 3 часа после ишемии/реперфузии, без изменения свойств сурфактанта в условиях ишемии/постК ($p = 0,4$, $p_1 = 0,71$).

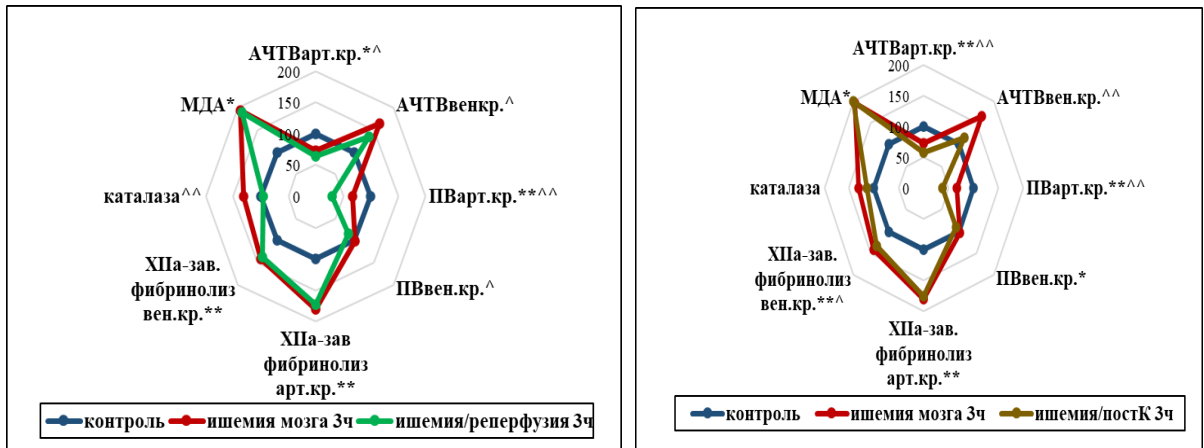


Рисунок 2. Показатели системы гемостаза, про- и антиоксидантной активности легочной ткани при ишемии головного мозга (3 часа), при ишемии/реперфузии и ишемии/постК (3 часа).

Примечание: контроль – 100%; * $p < 0,05$, ** $p \leq 0,01$ – различия статистически значимы по сравнению с контролем; ^ $p_1 < 0,05$, ^^ $p_1 \leq 0,01$ – по сравнению с острой ишемией мозга (3 часа).

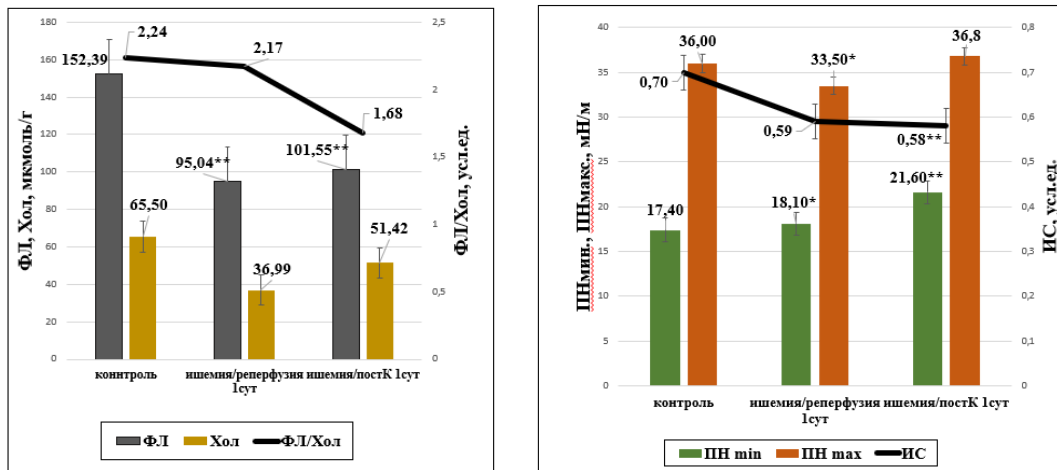


Рисунок 3. Показатели сурфактантной системы легких при ишемии/реперфузии и ишемии/постК (1 сут.) головного мозга.

Примечание: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ – различия статистически значимы по сравнению с контролем;

Через сутки в динамике постишемического периода изменения в системе сурфактанта усугубились и были однотипными независимо от режима восстановления мозгового

кровотока. Наблюдалось уменьшение фракции ФЛ в составе сурфактанта ($p < 0,01$), повышение ПНmin ($p < 0,05$) и уменьшение ИС альвеол ($p, p_1 < 0,05$) (Рисунок 3).

Изменения водного баланса легких отмечались только в условиях ишемии/реперфузии и характеризовались нарастанием объема общей и экстраваскулярной жидкости ($p_2 < 0,01$), что может быть обусловлено деструктивным влиянием свободных радикалов на альвеоло-капиллярную мембрану в условиях сохранения дисбаланса про-и антиоксидантов легочной ткани, о чем свидетельствует увеличение содержания МДА ($p < 0,05$), без изменения активности каталазы ($p \geq 0,05$).

При восстановлении церебрального кровотока в режиме постК содержание МДА метаболитов в легких уменьшилось ($p_1 < 0,05$) на фоне повышения активности каталазы ($p < 0,01$), обеспечивающей реализацию механизмов саногенеза. В системе гемостаза высокий коагуляционный потенциал, выявленный при ишемии мозга и через 3 часа после восстановления мозгового кровотока, через сутки после реперфузии понизился с увеличением ПВарт ($p_2 < 0,01$), однако параметр не достиг контрольных значений ($p < 0,01$). Вероятно, позитивные изменения в системе гемокоагуляции были обусловлены восстановлением фибринолитической активности крови как в системном, так и легочном кровотоке ($p > 0,05$). В условиях постК активность фибринолиза оставалась низкой ($p < 0,01$), что обусловило сохранение высокого коагуляционного потенциала крови ($p < 0,01$).

Таким образом, в ранние сроки (3 часа) постишемического восстановления церебрального кровотока при реперфузии и постК возрастает коагуляционный потенциал крови с угнетением системы фибринолиза на фоне высокой прооксидантной активности легочной ткани. Через сутки реперфузии и постК продукция ФЛ сурфактанта уменьшается с понижением его поверхностной активности на фоне нарастающей гипергидратации легких и оптимизации гемостаз-корректирующей активности легких в условиях ишемии/реперфузии, при сохранении высокого коагуляционного потенциала крови на фоне угнетения системы фибринолиза в условиях посткондиционирования.

Негазообменные функции легких в условиях гипоксического и фармакологического прекондиционирования головного мозга. Актуальным направлением современной медицины является разработка и внедрение различных способов нейропротекции. Базируясь на представлениях о закономерностях активации эндогенных механизмов защиты перед тяжелой ишемией (Чефранова Ж.Ю с соавт., 2019; Li S. et all, 2017; Liu J. et all., 2021), были проведены исследования негазообменных функций легких в условиях гипоксического и фармакологического прекондиционирования. Особенностью ГПреК является применение гипоксических тренировок, системно влияющих на весь организм, которые носят неинвазивный характер (Новиков В.Е. с соавт., 2018; Coimbra-Costa D. et all, 2021). Было установлено, что кратковременные гипоксические интервальные тренировки в течение четырех дней приводили к уменьшению содержания ФЛ в составе сурфактанта ($p < 0,01$) на фоне повышения активности фосфолипазы ($p < 0,01$), снижению ИС альвеол ($p < 0,01$) (Рисунок 4). Наличие корреляционных связей между количеством ФЛ и активностью фосфолипазы ($r_s = -0,90$; $p < 0,01$) свидетельствуют об усилении катаболизма липидов сурфактанта в условиях интервальных гипоксических тренировок. Аналогичные изменения сурфактанта легких были выявлены Нестеровым Ю.В. с соавт. (2016), Султановой

Т.С. (2020) при моделировании гипоксии в барокамере со снижением ИС альвеол на 18,6%, что авторы также связывали с усиленным катаболизмом сурфактанта и повышенным его расходом при гипервентиляции. Изменения в системе сурфактанта сопровождались уменьшением кровенаполнения легких ($p < 0,05$), вероятно, обусловленным развитием гипоксической вазоконстрикции (Бережанская С.Б. с соавт., 2011; Вауэр Р.Р. 2013).

При использовании режима ГПреК в системе сурфактанта активность фосфолипазы значительно увеличилась и превысила значение на 30% относительно параметра в условиях гипоксических тренировок ($p_1 < 0,05$) и на 46% - при ишемии мозга ($p_2 < 0,05$). Содержание ФЛ не отличалось от контроля (Рисунок 4). Оптимизации поверхностной активности БАС при ГПреК не отмечалось, показатели поверхностного натяжения и ИС альвеол не отличались от параметров, полученных при ишемии мозга и в условиях гипоксических тренировок.

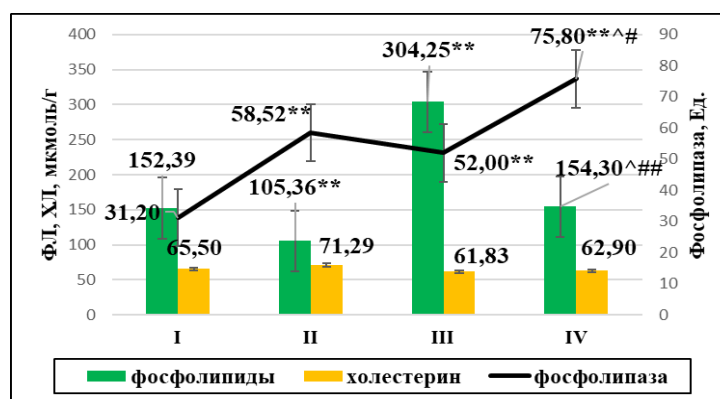


Рисунок 4. Показатели сурфактантной системы легких при ишемии головного мозга (1 сут.) и в условиях ГПреК (1 сут.).

Примечание: медиана, 25–, 75– квартили; I – контроль, II – гипоксические тренировки, III – ишемия мозга (1сут.), IV – ГПреК.; * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ – различия статистически значимы по сравнению с контролем; # $p_1 < 0,05$, ## $p_1 < 0,01$ – по сравнению с гипоксическими тренировками; ^ $p_2 < 0,05$, ^^ $p_2 < 0,01$ – по сравнению с ишемией мозга (1 сут.).

В водном балансе, как и при использовании гипоксических тренировок, кровенаполнение легких уменьшалось (p , $p_1 < 0,01$). Позитивным эффектом ГПреК стало снижение коагуляционного потенциала крови, значительно увеличенного в условиях ишемии мозга. Показатели АЧТВ артериальной и венозной крови возросли до контрольных значений ($p > 0,05$), ПВарт и ПВвен увеличились ($p_2 < 0,01$), но оставались ниже параметров в контроле ($p < 0,05$), сохранялась низкой фибринолитическая активность крови как в системном, так и легочном кровотоке (p , $p_2 < 0,01$). Применение режима ГПреК обеспечило снижение активности свободно-радикальных процессов в легочной ткани по сравнению с ишемией мозга ($p_2 < 0,01$). Однако наряду с уменьшением содержания МДА, отмечалось снижение активности каталазы ($p < 0,05$; p_1 , $p_2 < 0,01$). Аналогичные результаты при применении периодической гипоксии в своих исследованиях отмечали Сергеева Т.Ф. с соавт. (2011). Однако по данным Кислина М.С. с соавт. (2013) использование режимов ГПреК приводит к

повышению как активности свобонорадикального окисления, так и ферментов антиоксидантной защиты.

В отличие от ГПреК, оказывающего системное воздействие на организм, применение ФПреК обеспечивает целенаправленную активацию определенных рецепторных сайтов структур головного мозга с инициацией внутриклеточных эндогенных саногенетических механизмов (Новиков В.Е. с соавт., 2020; Levchenkova O.S. et al., 2018). При использовании ФПреК летальность животных понизилась до 30%, относительно 37% при ишемии мозга (1 сут) ($p < 0,05$). В составе сурфактанта уровень ФЛ не отличался от контрольных значений ($p = 0,44$), но также как и при ГПреК был ниже, чем при ишемии мозга ($p_1 = 0,021$) на фоне сохранения высокой активности фосфолипазы ($p < 0,01$) (Рисунок 5).

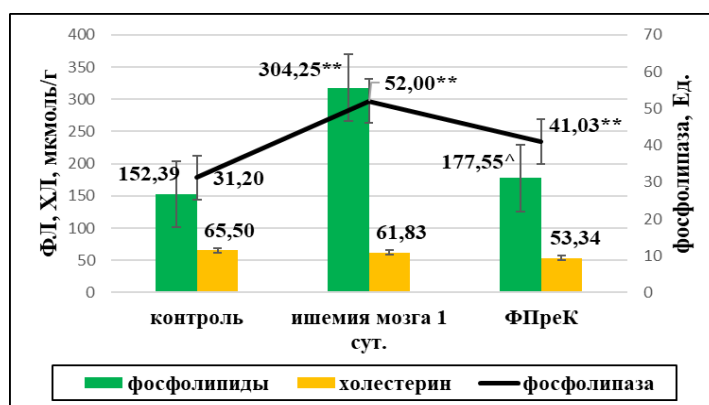


Рисунок 5. Показатели сурфактантной системы легких при ишемии головного мозга (1 сут.) и в условиях ФПреК (1сут.).

Примечание: медиана, 25–, 75– квантили; * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ – различия статистически значимы по сравнению с контролем; ^ $p_1 < 0,05$, ^^ $p_1 < 0,01$ – по сравнению с ишемией мозга (1сут.).

Однако в условиях ФПреК отмечалась оптимизация поверхностно-активных свойств альвеолярного выстилающего комплекса с понижением ПНmin ($p_1 < 0,05$) и повышением ИС альвеол ($p_1 < 0,01$) относительно параметров при ишемии мозга. Вероятно это обусловлено уменьшением деструктивного влияния свободных радикалов на легочную ткань, о чем свидетельствовало уменьшение МДА ($p_1 < 0,01$), повышение активности каталазы ($p, p_1 < 0,05$), а также корреляционные связи между ПНmin и каталазой легочной ткани ($r_s = -0,82$; $p < 0,05$), ИС альвеол и каталазой легочной ткани ($r_s = 0,97$; $p < 0,01$). Аналогичный эффект применения аденозина установили в исследованиях Минакина Л.Н. с соавт. (2015), Зарубина И.В. с соавт. (2016), с уменьшением содержания лактата и МДА в структурах мозга и одновременным повышением активности ферментов антиоксидантной системы у животных. Полагают, что одним из факторов снижения интенсивности окислительного стресса является уменьшение симпатической активности в условиях введения аденозина (Зарубина И.В. с соавт., 2016.; Новиков В.Е с соавт., 2020). Другим следствием уменьшения свободных радикалов в легочной ткани явилась оптимизация гемостаз-корректирующей активности легких. Понизился коагуляционный потенциал крови, как в системном, так и легочном кровотоке на

фоне ее высокой фибринолитической активности ($p, p_1 < 0,01$) с увеличением артерио-венозной разницы по каждому показателю ($p < 0,05$).

В водном балансе в условиях ФПреК, как и при ишемии мозга, сохранялось увеличение органного кровенаполнения ($p = 0,013$) без изменения содержания общей и экстраваскулярной жидкости легких ($p > 0,05$). Однако наличие корреляционной связи между кровенаполнением и ПНmin ($r_s = -0,54; p < 0,05$), уменьшенным в условиях ФПреК, а также оптимизация коагуляционного и фибринолитического потенциала крови, свидетельствуют о повышении эффективности органного кровотока в условиях введения аденозина. В литературе описаны различные вазомоторные реакции при использовании аденозина, зависящие от действия препарата на различные подтипы аденозиновых рецепторов, с преобладанием эффектов вазодилатации (Иванов А.Н. с соавт., 2020; Feng M-G. et al, 2010; Khayat M.T. et al, 2017). Однако, в наших исследованиях при однократном внутривенном введении аденозина изменений водного баланса и кровенаполнения легких не наблюдалось.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты экспериментальных исследований позволяют заключить, что дизрегуляторные нарушения негазообменных функций легких в динамике ишемического поражения головного мозга, при восстановлении церебрального кровотока в режиме реперфузии и посткондиционирования, а также в условиях прекондиционирования мозга характеризуются различной степенью дизадаптивных сдвигов наряду с реализацией саногенетических процессов в легочной ткани.

Выявлено, что в условиях неполной глобальной ишемии мозга, как в ранние сроки, так и в отсроченное время (10 сутки, 21 сутки), отмечается напряженность механизмов контроля водного баланса с повышением органного кровенаполнения в первые сутки и гипергидратацией легких с увеличением объема внесосудистой жидкости к третьей неделе эксперимента. В острый период ишемии мозга (с первых суток по 21 сутки) выявлены дизрегуляторные нарушения сурфактантной системы легких, которые характеризуются снижением продукции и активацией процессов катаболизма альвеолярных фосфолипидов в динамике ишемии мозга, ухудшением поверхностно-активных свойств сурфактанта на фоне прогрессирующего повышения интенсивности липопероксидации легочной ткани. Установлено угнетение фагоцитарной активности альвеолярных макрофагов к 21 суткам ишемии мозга с ограничением эффективности механизмов органной резистентности.

Определена ведущая роль интенсификации процессов ПОЛ в развитии дисфункции эндотелия легких с нарушением эффективности механизмов контроля коагуляционного потенциала крови и его повышением в системе малого круга кровообращения в динамике экспериментальной ишемии мозга. Выявлено, что гиперкоагуляция крови в легочном кровотоке сопровождается понижением её фибринолитического потенциала в первые сутки с последующей его активацией на 10 сутки и 21 сутки исследования, что можно расценивать как реализацию саногенетических механизмов в условиях неполной глобальной ишемии мозга.

Показано, что в условиях острейшей фазы ишемии головного мозга и в первые три часа ишемии/реперфузии и ишемии/постК наблюдаются однотипные расстройства гемостаз-корректирующей функции легких с повышением коагуляционного и снижением фибринолитического потенциала крови, сопряженные с высокой прооксидантной активностью легочной ткани. Через сутки постшемического восстановления кровотока в режиме реперфузии и посткондиционирования усугубляются расстройства негазообменных функций легких с понижением продукции фосфолипидов, ухудшением поверхностно-активных свойств сурфактанта на фоне высокого коагуляционного потенциала крови в системе малого круга кровообращения. При восстановлении мозгового кровообращения в режиме ишемии/реперфузии изменения негазообменных функций легких наблюдались на фоне интенсификации ПОЛ, в условиях ишемии/постК - отмечалось повышение антиоксидантной и уменьшение прооксидантной активности легочной ткани.

Установлена низкая эффективность гипоксического прекодиционирования в обеспечении негазообменных функций легких, что проявляется сохранением расстройств, индуцированных ишемией, и характеризуется ухудшением поверхностно-активных свойств сурфактанта на фоне высокой активности фосфолипазы и дисбаланса про- и антиоксидантов в легочной ткани.

Показано, что применение фармакологического прекодиционирования головного мозга приводит к оптимизации поверхностно-активных свойств выстилающего комплекса альвеол с повышением индекса стабильности, сниженного в условиях ишемии мозга, с одновременным уменьшением коагуляционного потенциала крови на фоне увеличения её фибринолитической активности как в системном, так и легочном кровотоке. Эффективность реализуемых саногенетических программ в условиях фармакологического прекодиционирования проявилась повышением антиоксидантной активности легочной ткани с одновременным понижением интенсивности процессов липопероксидации.

Таким образом, при ишемическом поражении головного мозга, а также реперфузии, посткондиционировании и применении различных режимов прекодиционирования дизрегуляторные нарушения негазообменных функций легких являются фактором патогенеза дисфункции системы внешнего дыхания.

ВЫВОДЫ

1. Ишемическое поражение головного мозга в динамике исследований сопровождается нарушением негазообменных функций легких с преимущественным расстройством водного баланса и прогрессивным увеличением объема жидкости в легочной ткани с первых суток по 21 сутки церебральной ишемии за счет повышения органного кровенаполнения и жидкости экстраваскулярного сектора. Нарушения водного баланса сопряжены со снижением поверхностно-активных свойств сурфактанта легких. Фактором патогенеза развития органной гипергидратации и дисфункции сурфактанта являются прогрессивное повышение фосфолипазной активности и интенсивности ПОЛ.

2. Нарушение гемостаз-корректирующей функции легких при ишемическом поражении мозга характеризуется повышением коагуляционного потенциала в системе малого круга

кровообращения и одновременным угнетением активности системы фибринолиза в острейшую фазу (3 часа) и первые сутки церебральной ишемии, с последующим (10 сутки и 21 сутки) сохранением гиперкоагуляции на фоне повышения фибринолитического потенциала крови.

3. Постишемическое восстановление мозгового кровотока (3 часа, первые сутки) в режиме ишемии/реперфузии и ишемии/постК характеризуется сохранением высокого коагуляционного потенциала на фоне интенсификации ПОЛ с компенсаторным повышением антиоксидантной активности легочной ткани, преимущественно в условиях ишемии/постК.

4. Ишемия/реперфузия и ишемия/постК (первые сутки) сопровождаются однотипными изменениями сурфактантной системы легких с уменьшением продукции фосфолипидов и снижением поверхностной активности выстилающего комплекса альвеол и нарастающей гипергидратацией легких в условиях реперфузии.

5. Фармакологическое прекондиционирование с использованием аденозина (первые сутки) обеспечивает оптимизацию негазообменных функций легких, измененных в условиях ишемии мозга, с улучшением поверхностно-активных свойств сурфактанта, восстановлением гемостаз-корректирующей активности легких, уменьшением про- и повышением антиоксидантного потенциала легочной ткани. Гипоксическое прекондиционирование (первые сутки) сопровождается снижением интенсивности ПОЛ и коагуляционного потенциала крови с сохранением дисфункции сурфактанта, угнетением фибринолиза, индуцированных ишемией мозга.

Практические рекомендации

1. Результаты проведенного экспериментального исследования в динамике неполной глобальной ишемии головного мозга раскрывают закономерности изменений негазообменных функций легких в патогенезе нарушений системы внешнего дыхания у пациентов с ишемическим поражением головного мозга. Полученные данные расширяют представления о механизмах развития дисфункции сурфактанта, расстройств водного баланса и нарушений гемостаз-корректирующей активности легких и их взаимосвязи в разные сроки постишемического периода и могут учитываться при ведении больных с нарушением мозгового кровообращения.

2. Материалы исследований, полученные в условиях постишемического восстановления церебрального кровотока в режиме реперфузии и посткондиционирования, а также при использовании различных режимов прекондиционирования мозга раскрывают особенности изменений негазообменных функций легких при формировании толерантности мозга к ишемическому и реперфузионному его повреждению и могут быть использованы в практике врачей неврологов и нейрохирургов при проведении комплексных мероприятий по профилактике развития дыхательной недостаточности у пациентов с ишемическим поражением мозга.

3. Результаты работы, свидетельствующие об эффективности введения аденозина с целью прекондиционирования мозга, открывают путь для оптимизации подходов по фармакологической коррекции расстройств негазообменных функций легких при цереброваскулярной патологии.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России, а также входящие в базу данных Scopus:

1. Лукина, С.А. Метаболические функции легких при десятидневной неполной глобальной ишемии мозга в эксперименте / С.А. Лукина, М.Р. Тимофеева, Е.В. Волкова, **Р.В. Трушникова** // **Регионарное кровообращение и микроциркуляция**. – 2014. – Т. 13, № 3 (51). – С. 68 – 73.
2. **Трушникова, Р.В.** Гемостатическая функция легких при экспериментальной ишемии мозга / **Р.В. Трушникова**, М.Р. Тимофеева // **Вестник Российского Государственного медицинского университета**. – 2015. – Выпуск №2. – С. 281 – 282.
3. Лукина, С.А. Функциональная активность альвеолярных макрофагов при дисфункции гиппокампа и стриатума / С.А. Лукина, М.Р. Тимофеева, Е.В. Волкова, **Р.В. Трушникова** // **Российский иммунологический журнал**. – 2015. – Т. 9 (18), №2 (1). – С. 790 – 792.
4. **Трушникова, Р.В.** Гемостаз-контролирующая функция легких в динамике экспериментальной ишемии мозга / **Р.В. Трушникова**, С.А. Лукина, М.Р. Тимофеева, Е.В. Волкова-Шамсиева // **Тромбоз, гемостаз и реология**. – 2016. – Т.76, №3. Приложение 1. – С. 424 – 425.
5. Лукина, С.А. Фагоцитарная активность макрофагов и сурфактант легких в динамике неполной глобальной ишемии мозга / С.А. Лукина, **Р.В. Трушникова** // **Медицинская иммунология**. – 2017. – Т.19. – №2. – С. 207 – 208.
6. Лукина, С.А. Гемостазконтролирующая активность и водный баланс легких в динамике экспериментальной ишемии мозга / С.А. Лукина, М.Р. Тимофеева, **Р.В. Трушникова**, Г.С. Иванова // **Вестник СурГУ. Медицина**. – 2021. – № 1 (47). – С. 80 – 86.
7. **Трушникова – Лужбина, Р.В.** Сурфактант и водный баланс легких при постишемическом восстановлении мозгового кровотока в эксперименте / **Р.В. Трушникова-Лужбина**, С.А. Лукина, М.Р. Тимофеева // **Вестник СурГУ. Медицина**. – 2022. – № 4 (54). – С. 87 – 93.

Публикации в других рецензируемых изданиях:

1. Лукина, С.А. Использование биофизического метода в комплексной оценке сурфактантной системы легких / С.А. Лукина, М.Р. Тимофеева, Е.В. Волкова, **Р.В. Трушникова** // **Материалы II международной конференции «На стыке наук. Физико-химическая серия»**. – 2014. – Том 2. – С. 20 – 22.
2. Лукина, С.А. Сурфактант и водный баланс легких в динамике ишемического поражения мозга / С.А. Лукина, **Р.В. Трушникова** // **Материалы XI Международного междисциплинарного конгресса «Нейронаука для медицины и психологии»**. – Судак. Крым. Россия, 2015. – С. 260.
3. **Трушникова, Р.В.** Гемостатическая активность легких в условиях острой ишемии мозга и на фоне прекондиционирования / **Р.В. Трушникова**, Д.Д. Филиппов, Е.Ю. Морозов // **Материалы VI международного молодежного медицинского конгресса «Санкт-Петербургские научные чтения-2015»**. – Санкт-Петербург, 2015. – С. 283 – 284.

4. Лукина, С.А. Состояние сурфактантной системы и водного баланса легких при неполной глобальной ишемии головного мозга и в условиях прекондиционирования / С.А. Лукина, **Р.В. Трушникова** // Материалы Всероссийской конференции с международным участием «Современные проблемы физиологии высшей нервной деятельности сенсорных и висцеральных систем». – Санкт-Петербург, 2015. – С. 124 – 125.
5. Ибрагимов, Д.Д. Влияние острого прекондиционирования на гемостатическую активность легких при неполной глобальной ишемии мозга / Д.Д. Ибрагимов, **Р.В. Трушникова** // Материалы III Всероссийского научного медицинского форума студентов и молодых ученых с международным участием «Белые цветы». – Казань, 2016. – С. 276.
6. **Трушникова, Р.В.** Водный баланс легких в динамике неполной глобальной ишемии мозга в эксперименте / **Р.В. Трушникова**, А.А. Атаманова, Р.Н. Шангараев // Вестник Российского Государственного медицинского университета. – 2016. – Выпуск №2. – С. 226 – 227.
7. **Трушникова, Р.В.** Гемостатическая активность и свободно-радикальные процессы в легких в острый период неполной глобальной ишемии мозга в эксперименте / **Р.В. Трушникова**, А.А. Александрова, С.А. Лукина // Вестник Башкирского государственного медицинского университета. – 2016. – №4. – С. 183 – 188.
8. **Трушникова, Р.В.** Сурфактантная система и активность свободнорадикальных процессов в легочной ткани в динамике неполной глобальной ишемии мозга в эксперименте / **Р.В. Трушникова**, А.А. Александрова, С.А. Лукина // Материалы II Международной (72 Всероссийской) научно-практической конференции молодых ученых и студентов, II Всероссийского форума медицинских и фармацевтических вузов «За качественное образование». – Уфа, 2017. – С. 1091 – 1095.
9. **Трушникова, Р.В.** Сравнительная оценка показателей системы гемостаза в условиях посткондиционирования и реперфузии при ишемии головного мозга в эксперименте / **Р.В. Трушникова**, А.С. Бывальцев, М.А. Темеева // Материалы XIII научно-практической конференции молодых ученых и студентов с международным участием. – Душанбе, 2018. – Т. 2. – С. 304 – 305.
10. Темеева, М.А. Развитие гемостатической формы эндотелиальной дисфункции в динамике при экспериментальной ишемии головного мозга / М.А. Темеева, А.В. Груздев, **Р.В. Трушникова** // Сборник материалов 6-й научно-практической конференции молодых ученых и специалистов «Трансляционная медицина от теории к практике». – Санкт-Петербург, 2018. – С.41 – 42.
11. Лукина, С.А. Гемостатическая активность легких при глобальной острейшей экспериментальной ишемии/реперфузии головного мозга / С.А. Лукина, **Р.В. Трушникова**, М.Р. Тимофеева // Материалы III международной научно-практической конференции «Экспериментальные и клинические аспекты микроциркуляции и функции эндотелия». – Смоленский медицинский Альманах. – 2018. – № 4. – С. 103 – 105.
12. Тимофеева, М.Р. Особенности негасообменных функций легких при ишемии мозга и дисбалансе нейромедиаторных систем в эксперименте / М.Р. Тимофеева, С.А. Лукина, **Р.В. Трушникова**, Е.В. Шамсиева // Материалы Всероссийской научной конференции

«Конвергенция в сфере научной деятельности: проблемы, возможности, перспективы». – Ижевск, 2018. – С. 71 – 76.

13. **Трушникова, Р.В.** Негазообменные функции легких при ишемии мозга и в условиях фармакологического прекондиционирования / **Р.В. Трушникова, С.А. Лукина** // Сборник научных трудов V Всероссийской научно-практической конференции с международным участием молодых ученых, аспирантов, студентов «Актуальные проблемы медико-биологических дисциплин». – Саранск, 2021. – Часть II. – С. 104 – 107.

14. Тимофеева, М.Р. Влияние режима постишемического восстановления церебрального кровотока на гемостазконтролирующую активность легких / М.Р. Тимофеева, **Р.В. Трушникова, С.А. Лукина** // Материалы XVIII Международного Междисциплинарного конгресса «Нейронаука для медицины и психологии». – Судак. Крым. Россия, 2022. – С. 344 – 345.

15. **Лужбина, Р.В.** Дизрегуляторные изменения сурфактанта и водного баланса легких при экспериментальной ишемии мозга и гипоксическом прекондиционировании / **Р.В. Лужбина, С.А.Лукина** // Огарев-online. – 2023. - №13. – Режим доступа: <https://journal.mrsu.ru/arts/dizregulyacionnye-izmeneniya-surfaktanta-i-vodnogo-balansa-legkix-pri-eksperimentalnoj-ishemii-mozga-i-gipoksicheskom-prekondicionirovanii>

Список сокращений:

АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время

БАС – бронхоальвеолярные смывы

ГПреК – гипоксическое прекондиционирование

ИС – индекс стабильности

Ишемия/постК – ишемия/посткондиционирование

МДА – малоновый диальдегид

мН/м — миллиньютон на метр

ОСА – общая сонная артерия

ПВ – протромбиновое время

ПНmax - поверхностное натяжение максимальное

ПНmin - поверхностное натяжение минимальное

ПНst - поверхностное натяжение статическое

ФЛ – фосфолипиды

ФПреК – фармакологическое прекондиционирование

ЛУЖБИНА РОЗА ВАЛЕРЬЕВНА

**ДИЗРЕГУЛЯТОРНЫЕ НАРУШЕНИЯ НЕГАЗООБМЕННЫХ ФУНКЦИЙ ЛЕГКИХ
ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА
И ИХ КОРРЕКЦИЯ**

3.3.3. Патологическая физиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Автореферат напечатан по решению диссертационного совета 21.2.074.03
ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России от «06» июля 2023г.