

УДК 616.24–092:546.81



О.С. Мунтян, О.С. Коцарєв

Система сурфактанта та неспецифічні механізми легеневого захисту

Дорожня клінічна лікарня на ст. Дніпропетровськ
Придніпровської залізниці

Ключові слова: сурфактант легень, сурфактантна система легень, легеневий захист, «Лазолван».

Сурфактант легень — багатошарова мембрана, що формується в альвеолах на межі розподілу гіпофаза—повітря [1, 7, 9]. Компоненти сурфактанта секретуються альвеолоцитами II типу у вигляді ламелярних тілець. У науковій літературі термін «сурфактант» використовують також для позначення ламелярних тілець. Якщо в біохімічному відношенні сурфактант та ламелярні тільця ідентичні, то у фізіологічному — вони різні, оскільки сурфактант — це багатошарова мембрана, а ламелярні тільця представлені комплексом двошарових мембран. Частка фосфоліпідів у складі сурфактанта становить 80–90 %, протеїнів — 10 %. У фосфоліпідному складі переважає фосфатидилхолін (70%), частка фосфатидилгліцеролу становить 5%, і 5% припадає на інші фосфоліпіди. Частка холестерину, тригліцеридів та ненасичених жирних кислот становить 10% ліпідного складу сурфактанта. Сурфактант, альвеолоцити II типу, гіпофаза (тонкий шар рідини на внутрішній поверхні альвеол) разом становлять сурфактантну систему легень.

Раніше нами була описана система катаболізму фосфоліпідів сурфактанта — відносно самостійна адаптаційна система до складу якої входять клітинні та позаклітинні структури, локалізовані в термінальних бронхіолах [6]. Клітинний компонент цієї системи представлений клітинами Клара, що секретують фосфоліпази, переважно A_2 , лаброцитами, що секретують катепсини (протеази), а також серозними клітинами бронхіол та дрібних бронхів, що продукують антипротеази.

Системи катаболізму забезпечує стабільність сурфактанта за рахунок переміщення фосфоліпідів з поверхні альвеол в трахео-бронхіальне дерево та руйнування, насамперед, пероксидних сполук, що мають токсичну дію.

Механізми, що забезпечують синтез та секрецію фосфоліпідів сурфактанта, а також катаболізм його фосфоліпідів і сурфактант позначають терміном «система сурфактанта». Сурфактант є системоутворюючим чинником, а його структура

і функції — рівноважним станом двох постійних взаємодіючих підсистем: підсистеми синтезу та секреції фосфоліпідів та підсистеми катаболізму.

Метою дослідження було з'ясування за допомогою морфологічних методів стану захисних механізмів респіраторного відділу легень при стимуляції системи сурфактанта.

Матеріали та методи

Об'єктом дослідження були легені експериментальних тварин, у яких стимулювання системи сурфактанта проводили шляхом внутрішньочеревного введення «Прозерину» (0,05% розчину) та «Лазолвану» в дозі 50 мг/кг маси тіла. Як експериментальні тварини були використані білі щури з масою тіла 180–200 г, що утримувалися на стандартному харчовому раціоні в умовах віварію. В експерименті було використано 51 тварину (41 — для прозеринової моделі, 10 — для лазолванової). Контрольна група складалася з 20 тварин. Утримання тварин, експеримент та вихід з експерименту проводили згідно з вимогами біоетики.

У групі з прозериновою моделлю були використані методи рутинної гістології, електронної мікроскопії. Фізико-хімічні зміни нативного сурфактанта і його фосфоліпідів досліджували за допомогою установки типу ван Вільгельмі із записом ізотерм стиснення і розтягнення, біохімічні дослідження фосфоліпідів сурфактанта проводили методом тонкошарової хроматографії [3, 5]. Активність катаболізму сурфактанта легень оцінювали за показником фосфоліпазної активності (ПФА), який розраховували за такою формулою:

$$\text{ПФА} = \frac{\% \text{лізофосфатидилхолін}}{\% \text{фосфатидилхолін}} \cdot 100.$$

У групі з лазолвановою моделлю були використані методи рутинної гістології, зокрема з приготуванням епонових блоків і дослідженням напівтонких зрізів, метод непрямой імуногістохімії з використанням авідин-біотинової системи і пероксидази хрину як ферментної мітки для ви-

Таблиця 1

Фізико-хімічні дослідження нативного сурфактанта легень при прозериновій стимуляції ($M \pm m$)

Показник	Контрольна група	Експериментальна група
Початковий поверхневий натяг, мН/м	43,92±0,80	51,81±2,66*
Мінімальний поверхневий натяг, мН/м	11,11±0,54	13,42±3,08
Індекс стабільності за Клементсом	1,19±0,04	1,23±0,15

Примітка. * Вірогідність різниці порівняно з контролем ($p < 0,05$).

явлення фосфоліпази A_2 поліклональними антитілами (сPLA₂ c-20 cs 1724, Santa Cruz Biotechnology) в розведенні 1:250 [8].

Статистичну обробку отриманих результатів проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики [4]. Достовірність різниці між показниками експериментальної та контрольної груп оцінювали за допомогою t-критерію Стьюдента при $p < 0,05$. Отримані результати аналізували та порівнювали з морфологічними змінами в респіраторному відділі легень.

Результати та їхнє обговорення

При стимуляції системи сурфактанта «Прозерином» макроскопічно легені щурів були блідо-рожевого, майже білого кольору, підвищеної повітряності, після розкриття плевральних порожнин не спадалися. При гістологічному дослідженні входи в альвеолярні мішечки і просвіти альвеол розширювалися, стінки альвеол у деяких випадках стоншувалися, в інших — дещо потовщувалися. Респіраторні бронхіоли були різко розширеними. Просвіти термінальних бронхіол звужувалися та містили незначну кількість еритроцитів і десквамованого епітелію. Клітини епітелію набрякали, були добре контурованими. Товщина стінок бронхіол не змінювалася. Слизова оболонка бронхіол здебільшого мала гладку поверхню і лише в деяких ділянках формувала складки. В паренхімі легень на тлі гострої емфіземи виявлено

ділянки дистелектазів та ателектазів, потовщення міжальвеолярних перегородок, які були повнокровними та набрякали. В просвіті альвеол були розташовані клітинні скупчення, до складу яких входили клітини десквамованого епітелію, макрофаги, поліморфноядерні лейкоцити та еритроцити.

Методами електронної мікроскопії виявлено, що більша частина альвеолоцитів II типу мала численні мікрівійки на апікальній поверхні цитоплазматичної мембрани, а також значну кількість осміофільних пластинчастих тілець у цитоплазмі. Частина осміофільних тілець в апікальній ділянці цитоплазми розташовувалася безпосередньо під цитоплазматичною мембраною, спостерігали їхню секрецію шляхом екзоцитозу (рис. 1). При дослідженні альвеолярної поверхні за допомогою скануючого електронного мікроскопа виявилось, що цитоплазматична мембрана альвеолоцитів II типу мала численні кратероподібні заглиблення. В просвіті альвеол спостерігалось накопичення осміофільного матеріалу.

Фізико-хімічні властивості нативного сурфактанта після прозеринової стимуляції майже не змінювалися (табл. 1), однак у біохімічному складі фосфоліпідів сурфактанта відбулися істотні зміни (табл. 2). Значно посилювалися механізми катаболізму сурфактанта, про що свідчило збільшення відсоткового вмісту у складі фосфоліпідів фракції лізофосфатидилхоліну і сфінгомієліну та

Таблиця 2

Біохімічний склад фосфоліпідів сурфактанта легень при прозериновій стимуляції ($M \pm m$)

Фосфоліпіди, %	Контрольна група	Експериментальна група
Лізофосфатидилхолін	0,76±0,20	3,67±0,64*
Сфінгомієлін	11,33±1,26	22,14±2,04*
Фосфатидилхолін	51,05±1,34	48,62±0,94
Фосфатидилетаноламін	37,05±1,87	26,19±2,04*
ПФА	0,8±0,09	5,72±0,66*

Примітка. * Вірогідність різниці порівняно з контролем ($p < 0,05$).

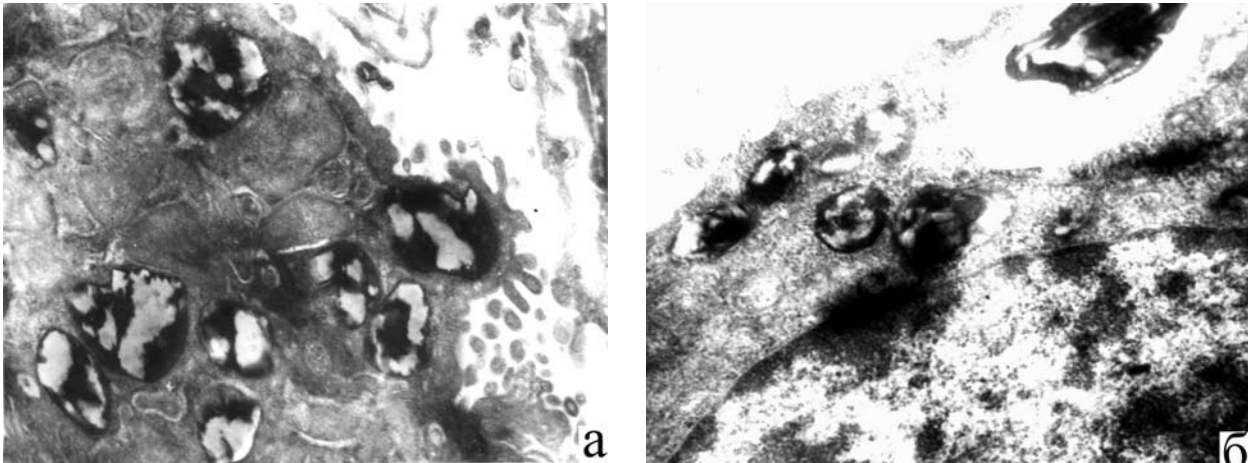


Рис. 1. Прозеринова стимуляція системи сурфактанта легень:
 а — апікальне розташування осміофільних пластинчастих тілець у цитоплазмі альвеолоциту II типу з вибуханням поверхневої цитоплазматичної мембрани, $\times 8000$;
 б — секреція осміофільного пластинчастого тільця в просвіт альвеоли, $\times 10000$

збільшення показника фосфоліпазної активності більш ніж у 5 разів. Кількість фосфоліпідів у легеневій тканині також зросла. Водночас вміст фосфатидилетаноламіну достовірно зменшився.

Отже, стимуляція «Прозерином» спричиняє як активацію синтетичних і секреторних процесів сурфактанта легень, так і посилення процесів катаболізму. Останнє призводить до накопичення в легеневій тканині сполук, які негативно впливають на метаболічні процеси і можуть спричинити структурно-функціональні зміни. Накопичення поверхнево-активних речовин на поверхні альвеол своєю чергою зумовлює зниження внутрішньоальвеолярного тиску і може призвести до розвитку емфіземи.

При стимуляції системи сурфактанта «Лазолваном» на гістологічних зрізах паренхіми легень, зафарбованих гематоксилін-еозином, виявили помірно виражену емфізему з підвищеною кіль-

кістю альвеолярних макрофагів і десквамованих альвеолоцитів II типу (рис. 2). На напівтонких зрізах, зафарбованих толуїдиновим синім, в альвеолоцитах II типу виявили велику кількість постсекреторних вакуолей (рис. 3). Відзначено підвищену активність клітин Клара та інших секреторних клітин бронхіол і дрібних бронхів, що виявлялося накопиченням секреторних гранул в апікальних відділах клітин. В опасистих клітинах зменшилася кількість гранул, що, ймовірно, спричинено посиленням їх секреції. При імуногістохімічному дослідженні на поверхні слизової оболонки дрібних бронхів, альвеолярній поверхні та в цитоплазмі клітин виявлено підвищений вміст фосфоліпази A_2 (рис. 4).

Результати проведених нами досліджень, а також дані літератури свідчать про те, що стимуляція системи сурфактанта «Прозерином» та «Лазолваном» спричиняє активацію системи синтезу

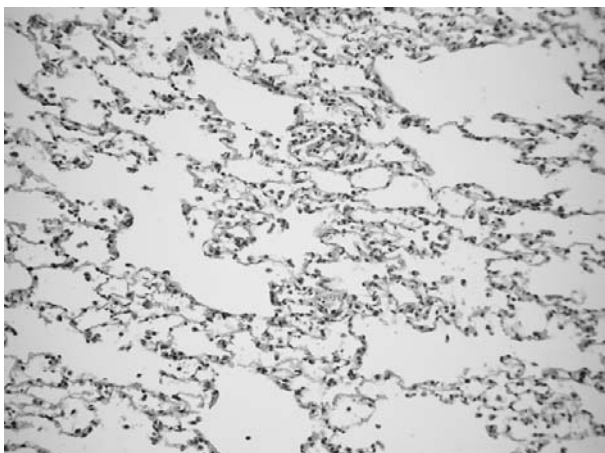


Рис. 2. Паренхіма легень при стимуляції «Лазолваном». Фарбування гематоксилін-еозином, $\times 200$

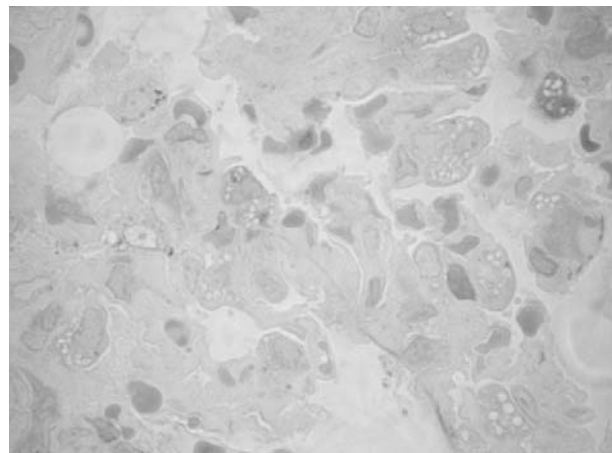


Рис. 3. Велика кількість постсекреторних вакуолей в апікальній частині альвеолоцитів II типу. Напівтонкий зріз, $\times 1000$



Рис. 4. Фосфоліпаза A_2 на поверхні слизової оболонки дрібного бронха та в цитоплазмі клітин. Імуногістохімічне дослідження, $\times 1000$

та секреції фосфоліпідів сурфактанта і виявляється емфіземою та підвищеною секрецією осміофільних пластинчатих тілець у просвіт альвеол. Результати фізико-хімічних досліджень свідчать про підвищення поверхневої активності нативного сурфактанта, а біохімічних — про збільшення кількості фосфоліпідів у легенях, а також про посилення їхнього катаболізму. Секреція фосфоліпідів сурфактанта супроводжується підвищенням кількості протеїнів сурфактанта, зокрема, SP-A та SP-D, які, згідно із сучасними уявленнями, відіграють велику роль у механізмах вродженого імунітету, що зумовлено їх здатністю зв'язувати віруси, бактерії, гриби, алергени, діючи як опсоніни [10]. Окрім того, SP-A стимулює оксидантну ак-

тивність макрофагів, посилює лімфоцитарну проліферацію.

Фосфоліпази, активовані протеазами, гідролізують фосфоліпіди до жирних кислот та лізосполук [3, 6]. Останні є потужними мембранними отрутами. Таким чином, у термінальних бронхіолах формується своєрідна суміш фосфоліпаз, протеаз та лізосполук, які забезпечують надійний антимікробний захист респіраторного відділу легень та стерильність альвеол.

Отримані результати дають змогу пояснити позитивний ефект «Лазолвану» у профілактиці післяопераційних пневмоній. «Лазолван» є одним з найпоширеніших та ефективних препаратів для лікування і профілактики респіраторних захворювань. Ефективність його дії зумовлена активацією синтезу та секреції фосфоліпідів сурфактанта, що підтверджено численними клінічними дослідженнями.

Висновки

1. Система сурфактанта забезпечує активний неспецифічний захист респіраторного відділу легень.

2. Найважливішим механізмом неспецифічного захисту легень є система катаболізму фосфоліпідів сурфактанта, локалізована у термінальних бронхіолах, яка забезпечує антимікробну активність ферментними системами (набір фосфоліпази, протеаз та лізосполук).

3. Сануюча дія зумовлена стимуляцією системи сурфактанта, що є найважливішою адаптаційною системою легень.

Література

1. Ерохин В. В. Функциональная морфология респираторного отдела легких. — М.: Медицина, 1987. — 272 с.
2. Карупу В. Я. Электронная микроскопия. — К.: Вища шк., 1984. — 208 с.
3. Кучеренко Н.Е., Васильев А.Н. Липиды. — К.: Вища шк., 1985. — 247 с.
4. Лакин Г. Ф. Биометрия. — 3-е изд. — М.: Высш. шк., 1990. — 293 с.
5. Микроскопическая техника: Руководство / Под ред. Д.С. Саркисова и Ю.Л. Перова. — М.: Медицина, 1996. — 544 с.
6. Неводник В.И., Коцарев О.С., Беленький И.В. Антисурфактантная система легких // Патол. физиол. и эксперим. медицина. — 1985. — Вып. 4. — С. 86–89.
7. Нестеров Е.Н., Паневская Г.Н. Сурфактантная система легких и коррекция ее нарушений при бронхолегочных заболеваниях // Пульмонология. — 2000. — № 3. — С. 19–25.
8. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека / Под ред. С.В. Петрова и Н.Т. Райхлина. — Казань, 2004. — 456 с.
9. Andreeva A.V., Kutuzov M.A., Voyno-Yasenetskaya T.A. Regulation of surfactant secretion in alveolar type II cells // Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol. — 2007. — Vol. 293. — P. L259-L271.
10. Crouch E.C. Collectins and pulmonary host defense // Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. — 1998. — Vol. 19. — P. 177–201.

А.С. Мунтян, О.С. Коцарев

Система сурфактанта и неспецифические механизмы защиты легких

Проведено комплексное морфологическое (гистологическое, электронно-микроскопическое и иммуногистохимическое) исследование легких в эксперименте при стимуляции системы сурфактанта «Прозерином» и «Лазолваном». Выявлена активация системы сурфактанта легких как под влиянием «Прозерина», так и «Лазолвана». Высокий уровень функциональной активности системы сурфактанта приводит к активации механизмов катаболизма. Накопление лизосоединений, а также протеаз, сурфактантных белков на уровне терминальных бронхиол и мелких бронхов обеспечивает неспецифический механизм защиты легких.

O.S. Muntyan, O.S. Kotsarev

Pulmonary surfactant system and nonspecific mechanism of lung defense

The complex morphological investigation of lung tissue (routine histology, electron microscopy, immunohistochemistry) has been held on a rat model after stimulation of surfactant system with Proserin and Lasolvan. Stimulation of surfactant system was revealed under influence of both of these drugs. High level of functional activity of surfactant system leads to activation of catabolic mechanisms. Accumulation of lysocompounds, as well as proteases, surfactant proteins in terminal bronchioles and small bronchi provides mechanisms of lungs non-specific defense.