

Сезонные изменения поверхностной активности сурфактантов легкого

В. Ю. Горчаков, И. А. Булат

Сурфактантная система легкого весьма чувствительна к изменению внешних и внутренних факторов. При дыхании в условиях гипоксии или гипероксии происходит, как правило, снижение поверхностной активности сурфактантов [3]. Ранее было показано, что голодание и диеты с различными жирами также приводят к изменению поверхностной активности сурфактантов легкого [5]. Причем достоверное отклонение от нормы наблюдается уже через 2—3 сут голодания или применения жировой нагрузки.

Известно, что обмен жиров в организме человека и животных подвержен сезонным изменениям. В зимний период в большом количестве синтезируются липиды с ненасыщенными жирными кислотами, в летний период — с насыщенными [6]. Эти сведения позволили предположить, что особенности липидного обмена в летний и зимний периоды должны сказаться на поверхностной активности сурфактантов легкого.

Цель настоящего исследования — выяснить, существует ли дисперсия поверхностной активности сурфактантов легкого в различные сезоны года у интактных крыс, а также исследовать реактивность сурфактантной системы легкого в зависимости от исходного состояния липидного обмена.

Методика

Исследования проведены на беспородных белых крысах-самцах массой 100—120 г, содержавшихся в условиях вивария. Поверхностную активность сурфактантов определяли в экстрактах, выделенных из 100 мг ткани легкого. О поверхностной активности судили по значению индекса стабильности (ИС), который рассчитывали по максимальному и минимальному поверхностному натяжению ($\Pi_{\text{макс}}$ и $\Pi_{\text{мин}}$): $[(\Pi_{\text{макс}} - \Pi_{\text{мин}}) / (\Pi_{\text{макс}} + \Pi_{\text{мин}})] \cdot 2$.

Для определения реактивности сурфактантной системы легкого использовали ранее апробированный метод: животных «поднимали» в барокамере на «высоту» 9 000 м на 2 ч и забивали декапитированием через 2 ч после «спуска» [4]. Сурфактанты выделяли из предварительно отмытого от крови легкого. Ткань легкого иссекали ножницами до образования кашицы. Кашицу заливали охлажденным до 4°C 0,9 %-ным раствором хлористого натрия (объем раствора составлял пятикратный объем кашицы). Полученную суспензию встряхивали на шуттель-аппарате в течение 5 мин, затем центрифугировали при 9 000 г в течение 30 мин. Осадок ресуспензировали в 10 объемах охлажденного раствора хлористого натрия и повторно центрифугировали 10 мин при 1 500 г. К полученной надосадочной жидкости добавляли кристаллы хлористого натрия до получения плотности раствора 1,20 г/см³ и центрифугировали 60 мин при 9 000 г. Сурфактанты всплывали и образовывали тонкую пленку на поверхности раствора [9]. Липиды выделяли по методу Bligh и соавт. [8]. Хроматографию липидов проводили на силуфолу UV-254. В системе растворителей — хлороформ : метанол : вода (65 : 25 : 4) разгоняли фосфолипиды, а в системе растворителей — гексан : диэтиловый эфир : уксусная кислота (80 : 20 : 1) — нейтральные липиды. Общие липиды определяли по методу Amenta [7].

Результаты и их обсуждение

Длительное исследование сурфактантов легкого показало, что в течение года наблюдаются существенные колебания значений показателей, характеризующих их поверхностную активность. Так, минимальное поверхностное натяжение в течение года колебалось в пределах $(14,9 \pm 1,0)$ мН/м — $(29,3 \pm 0,8)$ мН/м ($P < 0,001$). Наименьшие значения минимального поверхностного натяжения отмечены в зимний период (в декабре—январе). Начиная с февраля минимальное поверхностное на-

тяжение увеличивалось и к апрелю его значение практически удвоилось. Подобные колебания были отмечены и для максимального поверхностного натяжения. Наибольшего значения ($58,5 \text{ мН/м} \pm 1,9 \text{ мН/м}$) максимальное поверхностное натяжение достигало в феврале, а начиная с апреля значения этого показателя снижались и к сентябрю они были самыми низкими $42,5 \text{ мН/м} \pm 0,9 \text{ мН/м}$ (табл. 1). Максимумы и минимумы максимального и минимального поверхностного натяжения не совпадают. А поскольку вместе они характеризуют поверхностную активность испытуемого образца, то в результате было отмечено колебание поверхностной активности сурфактантов. Индекс стабильности является косвенным показателем поверхностной активности. При его увеличении говорят о повышении поверхностной активности, и наоборот. Наиболее высокие значения индекса стабильности мы отмечали в декабре—январе — ($0,958 \pm 0,009$) — ($0,990 \pm 0,004$). Начиная с февраля индекс стабильности снижался и достигал своего минимума в июле — $0,580 \pm 0,019$.

Т а б л и ц а 1. Сезонные колебания показателей поверхностной активности сурфактантов легкого

Месяц	Поверхностное натяжение, мН/м			Индекс стабильности
	статистическое	максимальное	минимальное	
Январь	$33,7 \pm 1,1$	$44,1 \pm 0,9$	$14,9 \pm 1,0$	$0,990 \pm 0,004$
Февраль	$44,1 \pm 1,2$	$58,5 \pm 1,9$	$24,3 \pm 1,4$	$0,860 \pm 0,053$
Март	$41,0 \pm 1,3$	$50,2 \pm 1,6$	$24,8 \pm 0,9$	$0,668 \pm 0,023$
Апрель	$43,7 \pm 1,1$	$56,3 \pm 1,2$	$29,3 \pm 0,8$	$0,632 \pm 0,017$
Май	$45,6 \pm 1,0$	$53,1 \pm 1,5$	$28,6 \pm 0,9$	$0,601 \pm 0,041$
Июнь	$48,1 \pm 1,2$	$50,0 \pm 1,4$	$27,4 \pm 1,1$	$0,584 \pm 0,031$
Июль	$49,2 \pm 1,0$	$48,4 \pm 1,3$	$26,6 \pm 1,3$	$0,580 \pm 0,019$
Август	$52,4 \pm 1,4$	$46,2 \pm 1,0$	$25,1 \pm 1,2$	$0,593 \pm 0,038$
Сентябрь	$50,3 \pm 1,1$	$42,5 \pm 0,9$	$22,0 \pm 1,0$	$0,634 \pm 0,058$
Октябрь	$40,6 \pm 1,1$	$46,4 \pm 1,8$	$22,1 \pm 1,9$	$0,730 \pm 0,032$
Ноябрь	$38,3 \pm 1,3$	$45,1 \pm 1,0$	$18,3 \pm 0,9$	$0,847 \pm 0,016$
Декабрь	$35,3 \pm 1,0$	$45,0 \pm 0,7$	$15,9 \pm 0,8$	$0,958 \pm 0,009$

Известно, что поверхностная активность сурфактантов легкого определяется их количеством и качеством. Для анализа полученных результатов мы провели биохимические исследования сурфактантов. Обнаружено, что наибольшая концентрация липидов в сурфактантах 1 г сырой ткани легкого приходится на осень и составляет $0,071 \text{ г/г} \pm \pm 0,001 \text{ г/г}$, а наименьшая летом — $0,043 \text{ г/г} \pm 0,002 \text{ г/г}$. Максимальное содержание фосфолипидов в составе сурфактантов отмечалось весной и осенью. Такой же характер колебаний (с двумя максимумами и двумя минимумами) характерен и для содержания фосфатидилхолина, которому приписывают основную роль в реализации свойств сурфактантов. Исследование относительного (%) содержания холестерина показало, что его характер изменения близок к характеру изменений поверхностной активности, т. е. максимум содержания холестерина отмечается в осенне-зимний период и минимум — в летний.

На основании полученных данных можно говорить о том, что поверхностная активность — проявление взаимодействия различных составных частей сурфактантов и по содержанию одного из компонентов (даже фосфатидилхолина) нельзя судить о сурфактантах в целом.

Важным и не изученным является вопрос о влиянии различных факторов внешней среды, в частности гипоксии, на сурфактанты легкого в различные сезоны года. Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что в зимний период, когда исходная поверхностная активность сурфактантов высокая, гипоксия снижает ее (подобные данные мы обсуждали ранее [3]). В январе индекс стабильности после воздействия гипоксией снизился с $0,990 \pm 0,004$ до $0,633 \pm 0,019$ ($P < 0,01$). С апреля по июнь гипоксия, соответствующая подъему на

9000 м на 2 ч, не вызывала каких-либо изменений поверхностной активности сурфактантов легкого. В июле, когда индекс стабильности был наименьшим, в ответ на гипоксию отмечено повышение поверхностной активности сурфактантов. Индекс стабильности (табл. 2) повысился с $0,580 \pm 0,019$ до $0,640 \pm 0,012$ ($P < 0,05$).

Т а б л и ц а 2. Сезонное изменение реактивности сурфактантной системы легкого

Месяц	ИС для интактных крыс	ИС для крыс после воздействия острой гипоксией и ингаляцией этония	P
Январь	$0,990 \pm 0,004$	$0,633 \pm 0,019$	$< 0,01$
Февраль	$0,860 \pm 0,053$	$0,604 \pm 0,026$	$< 0,01$
Март	$0,668 \pm 0,023$	$0,621 \pm 0,016$	$< 0,05$
Апрель	$0,632 \pm 0,017$	$0,629 \pm 0,009$	—
Май	$0,601 \pm 0,041$	$0,599 \pm 0,010$	—
Июнь	$0,584 \pm 0,031$	$0,642 \pm 0,028$	—
Июль	$0,580 \pm 0,019$	$0,640 \pm 0,012$	$< 0,05$
Август	$0,593 \pm 0,039$	$0,621 \pm 0,011$	$< 0,05$
Сентябрь	$0,634 \pm 0,058$	$0,581 \pm 0,006$	$< 0,01$
Октябрь	$0,730 \pm 0,032$	$0,563 \pm 0,010$	$< 0,01$
Ноябрь	$0,847 \pm 0,016$	$0,590 \pm 0,012$	$< 0,01$
Декабрь	$0,958 \pm 0,009$	$0,601 \pm 0,018$	$< 0,01$

Т а б л и ц а 3. Изменение биохимического состава сурфактантов легкого при гипоксии в различное время года

Показатель	Зима	Весна	Лето	Осень
До воздействия гипоксией				
Концентрация общих липидов в сырой ткани легкого, г/г	$0,049 \pm 0,0012$	$0,0535 \pm 0,003$	$0,043 \pm 0,002$	$0,071 \pm 0,001$
Относительное содержание, %:				
фосфолипидов	$33,8 \pm 4,14$	$68,2 \pm 8,5$	$48,8 \pm 0,95$	$55,2 \pm 7,0$
нейтральных липидов	$66,2 \pm 4,14$	$31,8 \pm 1,5$	$51,1 \pm 0,93$	$44,6 \pm 5,0$
фосфатидилхолина	$9,6 \pm 0,5$	$23,9 \pm 2,4$	$18,2 \pm 1,2$	$20,7 \pm 2,5$
холестерина	$11,5 \pm 1,0$	$8,0 \pm 0,1$	$9,1 \pm 0,1$	$14,1 \pm 1,0$
После воздействия гипоксией				
Концентрация общих липидов в сырой ткани легкого, г/г	$0,0416 \pm 0,001$	$0,0390 \pm 0,005$	$0,027 \pm 0,009$	$0,0545 \pm 0,004$
Относительное содержание, %:				
фосфолипидов	$32,8 \pm 1,52$	$37,2 \pm 6,23$	$41,9 \pm 0,5$	$40,5 \pm 3,9$
нейтральных липидов	$67,5 \pm 1,52$	$62,8 \pm 6,23$	$58,2 \pm 0,4$	$59,9 \pm 4,1$
фосфатидилхолина	$7,8 \pm 1,26$	$9,17 \pm 0,19$	$13,1 \pm 0,7$	$18,8 \pm 1,4$
холестерина	$8,72 \pm 0,3$	$7,4 \pm 0,88$	$9,74 \pm 0,7$	$12,6 \pm 0,7$

Биохимическое исследование качественного состава сурфактантов легкого обнаружило, что в ответ на гипоксию происходит снижение содержания общих липидов, более выраженное в весенне-летний период, чем в другие. Весной и осенью после воздействия гипоксией в составе сурфактантов увеличивалось содержание нейтральных липидов. Анализ фракции фосфатидилхолина показал, что во все сезоны года гипоксическое воздействие приводит к уменьшению его относительного (%) содержания (табл. 3).

Анализ полученных результатов позволяет говорить о том, что поверхностная активность сурфактантов легкого подвержена сезонным колебаниям. Реактивность сурфактантной системы легкого зависит от

исходного состояния системы. Сурфактанты легкого представляют собой сложный комплекс веществ, в состав которого входят фосфолипиды, нейтральные липиды, холестерин. Каждый из составных компонентов вносит свой вклад в реализацию поверхностной активности сурфактантов легкого.

SEASONAL CHANGES IN THE SUPERFICIAL ACTIVITY OF THE LUNG SURFACTANTS

V. Yu. Gorchakov, I. A. Bulat

Alveolar surface tension was demonstrated by the Wilhelmy balance studies of minced lung extracts in different seasons of the year. The data permit suggesting that in December and January the minimal surface tension was 14.9 ± 1.0 mN/m and index stability was 0.990 ± 0.04 . The minimal surface tension increased to 28.6 ± 0.9 mN/m, and index stability decreased to 0.601 ± 0.04 in June. Reactivity of the surfactant lung system on hypoxia was the greatest in winter.

A. A. Bogomoletz Institute of Physiology,
Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, Kiev

1. Абрамзон А. А. Поверхностно-активные вещества. Свойства и применение.— Л.: Химия, 1975.—246 с.
2. Адам Н. К. Физика и химия поверхностей.— М.; Л.: Гостехиздат, 1947.—552 с.
3. Березовский В. А., Горчаков В. Ю. Поверхностно-активные вещества легкого.— Киев: Наук. думка, 1982.—165 с.
4. Горчаков В. Ю. Изменение поверхностной активности сурфактанта легких при острой и хронической гипоксии // Молекулярные аспекты адаптации к гипоксии.— Киев: Наук. думка, 1979.— С. 141—144.
5. Горчаков В. Ю., Немировский В. И., Терещук О. М. Влияние диет на поверхностную активность сурфактантов легкого // Сурфактанты легкого в норме и патологии.— Киев: Наук. думка, 1983.— С. 137—141.
6. Хочачка П., Сомера Дж. Стратегия биохимической адаптации.— М.: Мир, 1977.— С. 398.
7. Amenta J. S. A rapid chemical method for quantification of lipid separated by thin-layer chromatography // J. Lipid Res.—1964.—5, N 2.— P. 270—272.
8. Bligh E. G., Dyer W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification // Can. J. Biochem. Physiol.—1959.—37, N 8.— P. 911—917.
9. Tanaka Y., Tsunetomo T. Comparison of surfactants prepared from lungs of calf, ox, dog and rabbit // Chem. and Pharm. Bull.—1983.—31, N 11.— P. 4091—4099.

Ин-т физиологии им. А. А. Богомольца
АН УССР, Киев

Поступила 29.05.85

УДК 612.217

Сократительные свойства изолированных препаратов ткани легкого

Д. М. Михайлов, С. П. Сутягин, А. Г. Баранов

Предположение о том, что легкое обладает механической активностью, было высказано Varnier в 1797 г. и подтверждено результатами экспериментов, проведенных на изолированном легком, находящемся в камере в атмосфере отрицательного давления [18]. Научно-практический интерес к механической активности легкого был обусловлен изучением механизмов лечебного действия искусственного пневмоторакса [8, 14], причин редких осложнений по типу ателектаза легкого при оперативном вмешательстве в различные органы [7]. Сократительные свойства легкого обеспечивают динамическое постоянство внутриплеврального давления и описаны как активный легочный тонус [6]. Результаты исследований биомеханики дыхания в клинике и в эксперименте пока-