

Поверхностно-активные свойства сурфактанта легких и функциональная активность альвеолоцитов II типа в различное время суток в эксперименте

В настоящее время считается установленным, что поверхностно-активное вещество легких — сурфактант легких (СЛ) — синтезируется и секретируется на поверхность альвеол альвеолоцитами II типа, входящими в состав аэрогематического барьера [4, 6, 7, 9, 10]. Известно, что изменения ультраструктуры альвеолоцитов II типа, наблюдающиеся при различных патологических состояниях легких, сопровождаются угнетением или, наоборот, усилением поверхностной активности СЛ [1, 2]. Единичные сообщения [8] свидетельствуют, что у млекопитающих, в том числе у человека, активная секреция СЛ на поверхность альвеолы альвеолоцитами II типа происходит преимущественно в ночное время. Работ, касающихся суточного ритма синтеза и секреции СЛ, практически нет. Между тем, такие данные могли бы дать дополнительную информацию о механизмах выработки СЛ и особенностях функционирования альвеолоцитов II типа.

В этой связи цель нашего исследования — изучение поверхностно-активных свойств СЛ и функциональной активности альвеолоцитов II типа в различное время суток у морских свинок.

Методика

Материалом для исследования явились легкие 24 здоровых морских свинок обоего пола массой от 180 до 450 г, которые были разделены на 8 групп по 3 животных в каждой группе. Животные I-й группы были умерщвлены декапитацией под тиопенталовым наркозом в 3 ч ночи, 2-й — в 6 ч утра, 3-й — в 9 ч, 4-й — в 12 ч дня, 5-й — в 15 ч, 6-й — в 18 ч, 7-й — в 21 ч и 8-й группы — в 24 ч. Все работы с животными выполнены в соответствии с приказом МЗ СССР от 12.08.77 г. № 755 и дополнением к нему от 27.01.78 г. № 701.

Для изучения поверхностно-активных свойств СЛ готовили 10 %-ные водно-солевые экстракты из измельченной легочной ткани декапитированных животных. Затем из них с помощью метода дифференциального центрифугирования, по Abrams [5], выделяли поверхностно-активную фракцию, поверхностное натяжение которой ($\Pi_{\text{макс}}$ и $\Pi_{\text{мин}}$) определяли на весах Вильгельми в модификации Нестерова и соавт. [3]. Кроме того, в составе поверхностно-активной фракции определяли содержание общих липидов и фосфолипидов, последние разделяли на фракции с помощью метода тонкослойной хроматографии на пластинах «Silufol-UV-254» (ЧССР).

Для электронно-микроскопического исследования из легких животных вырезали кусочки ткани размерами 1×1 мм, свободные от крупных сосудов и бронхов, и фиксировали в 2,5 %-ном растворе глутаральдегида, приготовленном на фосфатном буфере (рН 7,2—7,4). После дофиксации материала в 1,5 %-ном растворе четырехоксида осмия кусочки обезживали в спиртах восходящей концентрации и абсолютном ацетоне, а затем помещали в смесь эпоксидных смол эпон-812 — ДДСА — МНА. Ультратонкие срезы готовили на ультратоме ЛКБ и просматривали в электронном микроскопе УЭМВ-100К.

Результаты и их обсуждение

Результаты, полученные при изучении поверхностно-активных свойств фракции, выделенной из легких экспериментальных животных, представлены в таблице. Анализ этих результатов свидетельствует, что среднее суточное значение $\Pi_{\text{мин}}$ поверхностно-активной фракции легких

морских свинок составляет $(14,8 \pm 0,2)$ мН/м, индекс стабильности (ИС) Клементса — $1,12 \pm 0,03$. Содержание фосфолипидов — $(0,047 \pm 0,004)$ ммоль/л, причем в их составе находится $(30,7 \pm 2,1)$ % наиболее активного в поверхностно-активном отношении фосфатидилхолина, что соответствует $(0,012 \pm 0,0011)$ ммоль/л. Из таблицы видно, что наименьшие значения $\Pi H_{\text{мин}}$ отмечаются у животных в 3 ч ночи — $(13,6 \pm 0,5)$ мН/м.

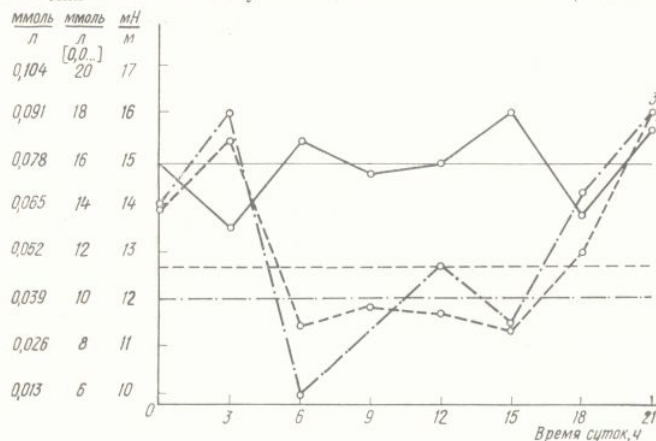


Рис. 1. Динамика минимального поверхностного натяжения (1), содержания общих фосфолипидов (2) и фосфатидилхолина (3) в поверхностно-активной фракции экстрактов ткани легких морских свинок в различное время суток.

Кроме того, в это время суток наблюдается наиболее высокое содержание фосфолипидов в составе СЛ — $(0,080 \pm 0,004)$ ммоль/л. При этом на долю фосфатидилхолина приходится $(22,6 \pm 0,7)$ % всех фосфолипидов, что составляет $(0,018 \pm 0,0015)$ ммоль/л. Последний показатель является одним из самых высоких показателей, характеризующих содержание фосфатидилхолина в составе фосфолипидов СЛ животных других групп. Наиболее высокие значения $\Pi H_{\text{мин}}$ поверхностно-активной фракции экстрактов легких морских свинок отмечаются в 15 ч — $(16,1 \pm 0,4)$ мН/м, что на 2,5 мН/м выше, чем в 3 ч ночи ($P < 0,001$). При этом в 15 ч ИС составляет $0,96 \pm 0,08$. Важно отметить, что в это время суток в составе СЛ содержится всего $(0,028 \pm 0,002)$ ммоль/л фосфолипидов. И хотя на долю фосфатидилхолина приходится $(34,4 \pm 3,4)$ % всех фосфолипидов, содержание этой наиболее активной в поверхностно-активном отношении фракции составляет лишь $(0,009 \pm 0,0015)$ ммоль/л.

Поверхностно-активные свойства фракции ткани легких морских свинок в различное время

Время суток	$\Pi H_{\text{мин}}$, мН/м	ИС	Содержание общих липидов, г/л	Содержание фосфолипидов, ммоль/л
3 ч	$13,6 \pm 0,5$	$1,3 \pm 0,01$	$1,12 \pm 0,05$	$0,080 \pm 0,004$
6 ч	$15,2 \pm 0,1$	$1,08 \pm 0,01$	$1,06 \pm 0,02$	$0,032 \pm 0,001$
9 ч	$14,6 \pm 0,8$	$1,07 \pm 0,03$	$1,08 \pm 0,02$	$0,033 \pm 0,001$
12 ч	$15,0 \pm 0,7$	$1,22 \pm 0,08$	$1,07 \pm 0,03$	$0,030 \pm 0,002$
15 ч	$16,1 \pm 0,4$	$0,96 \pm 0,08$	$0,96 \pm 0,03$	$0,028 \pm 0,002$
18 ч	$13,7 \pm 1,1$	$1,23 \pm 0,03$	$0,95 \pm 0,03$	$0,052 \pm 0,001$
21 ч	$15,7 \pm 0,1$	$1,09 \pm 0,02$	$1,05 \pm 0,01$	$0,057 \pm 0,013$
24 ч	$14,8 \pm 0,3$	$1,02 \pm 0,11$	$0,98 \pm 0,06$	$0,062 \pm 0,006$
Средние суточные значения	$14,8 \pm 0,2$	$1,12 \pm 0,03$	$1,04 \pm 0,02$	$0,047 \pm 0,004$

Примечания: показатели достоверности различий (P) приведены в тексте; в таблице опущены отношения фракций фосфолипидов, не всегда выявляемых при тонкослойной хроматографии.

На рис. 1 представлено содержание фосфолипидов в составе СЛ морских свинок в вечернее и дневное время суток. В вечернее время суток содержание фосфолипидов в составе СЛ морских свинок в вечернее и дневное время суток.

Рис. 2. Альвеолоцит II типа. В цитоплазме содержится большое число осmioфильных пластинчатых телец (ОПТ). Я — ядро клетки, М — митохондрии, ПА — просвет альвеолы. Электронная микрофотография $\times 18\,000$.

Важно отметить, что в вечернее и дневное время суток содержание фосфолипидов в составе СЛ морских свинок в вечернее и дневное время суток. В вечернее время суток содержание фосфолипидов в составе СЛ морских свинок в вечернее и дневное время суток.

содержание (M±m)

фосфатидилхолина	
%	ммоль
$22,6 \pm 0,7$	$0,018 \pm 0,001$
$20,0 \pm 2,7$	$0,006 \pm 0,001$
$23,2 \pm 1,9$	$0,008 \pm 0,001$
$35,6 \pm 10,7$	$0,011 \pm 0,002$
$34,4 \pm 3,4$	$0,009 \pm 0,001$
$26,5 \pm 1,1$	$0,014 \pm 0,001$
$31,8 \pm 1,5$	$0,018 \pm 0,002$
$21,0 \pm 2,9$	$0,014 \pm 0,001$
$30,7 \pm 2,1$	$0,012 \pm 0,001$

ны результаты, касающиеся содержания фосфолипидов в составе СЛ морских свинок в вечернее и дневное время суток.

1С)
04)
гив-
ют-
шие
/м.

На рис. 1 представлена динамика $ПН_{мин}$ содержания фосфолипидов и фосфатидилхолина в поверхностно-активной фракции экстрактов ткани легких морских свинок в разное время суток. Как видно, $ПН_{мин}$ у морских свинок в вечернее и ночное время (с 18 ч до 3 ч), как правило, ниже средних суточных значений, а содержание фосфолипидов и фосфатидилхолина, наоборот, выше. Этот факт может свидетельство-



Рис. 2. Альвеолоцит II типа. В цитоплазме содержится большое число осмиофильных пластинчатых телец (ОПТ). Я — ядро клетки, М — митохондрии, ПА — просвет альвеолы. Электронная микрофотография. $\times 18\,000$.

щих
рак-

вать, что в вечернее и ночное время у морских свинок синтез и секреция СЛ происходят интенсивнее, чем в дневные часы.

Это предположение находит свое подтверждение при электронномикроскопическом исследовании ткани легких экспериментальных животных. В вечернее и ночное время альвеолоциты II типа находятся в более активном состоянии по выработке поверхностно-активного вещества, чем в дневные часы. На это, в частности, указывает то обстоятельство, что в вечернее и ночное время (21 и 3) альвеолоциты II типа содержат в своей цитоплазме 8—14 осмиофильных пластинчатых телец (ОПТ) из расчета на 1 срез, являющихся внутриклеточным эквивалентом поверхностно-активной выстилки альвеол (рис. 2), в то время как в дневные часы в альвеолоцитах II типа содержится лишь 5—6 ОПТ/срез. Важен, по нашему мнению, тот факт, что днем в легких животных практически не обнаруживается выход ОПТ в просвет альвеол из цитоплазмы альвеолоцитов II типа, а в ночное время секреция альвеолоцитами II типа ОПТ в просвет альвеол отмечается в каждой пятой клетке. Помимо этого, только в ночное время в просветах альвеол на-

жа-
том
апи-
яв-
дер-
дру-
ной
ч —
01).
что
ль/л
,4±
по-
09±

ичное время

суток ($M \pm m$)

анализ фосфо- в, ммоль/л	Доля в составе фосфолипидов			
	фосфатидилхолина		фосфатидилэтаноламина	
	%	ммоль/л	%	ммоль/л
$0 \pm 0,004$	$22,6 \pm 0,7$	$0,018 \pm 0,0015$	$32,2 \pm 2,0$	$0,026 \pm 0,0029$
$2 \pm 0,001$	$20,0 \pm 2,7$	$0,006 \pm 0,0009$	$26,4 \pm 4,8$	$0,008 \pm 0,0015$
$3 \pm 0,001$	$23,2 \pm 1,9$	$0,008 \pm 0,0006$	$36,6 \pm 0,6$	$0,010 \pm 0,0022$
$0 \pm 0,002$	$35,6 \pm 10,7$	$0,011 \pm 0,0037$	$26,0 \pm 12,7$	$0,007 \pm 0,0029$
$8 \pm 0,002$	$34,4 \pm 3,4$	$0,009 \pm 0,0015$	$23,6 \pm 0,1$	$0,006 \pm 0,0004$
$2 \pm 0,001$	$26,5 \pm 1,1$	$0,014 \pm 0,0004$	$32,6 \pm 4,1$	$0,017 \pm 0,0018$
$7 \pm 0,013$	$31,8 \pm 1,5$	$0,018 \pm 0,0026$	$24,3 \pm 3,2$	$0,014 \pm 0,0032$
$2 \pm 0,006$	$21,0 \pm 2,9$	$0,014 \pm 0,0019$	$22,5 \pm 4,4$	$0,013 \pm 0,0012$
$7 \pm 0,004$	$30,7 \pm 2,1$	$0,012 \pm 0,0011$	$27,4 \pm 1,9$	$0,013 \pm 0,0014$

лине опуще
хроматогр

ны результаты, касающиеся содержания ряда менее активных в поверхностно-активном аффи.

Полученные результаты свидетельствуют о более высокой синтетической и секреторной активности альвеолоцитов II типа в ночное время, что отражается на состоянии поверхностно-активных свойств СЛ. Учитывая, что иннервация легких осуществляется помимо других нервов ветвями блуждающего нерва, а также то, что вагусные влияния возрастают в ночное время, можно предположить, что усиление синтеза

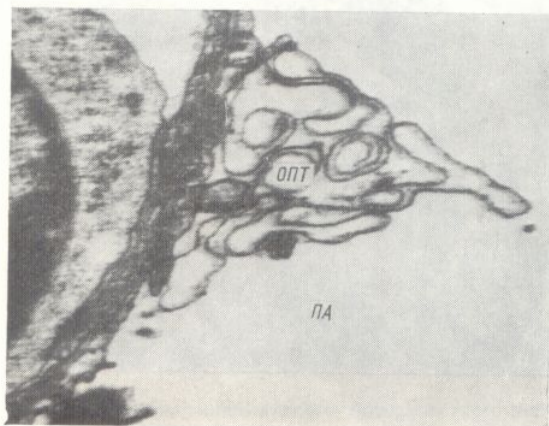


Рис. 3. Просвет альвеолы (ПА). Видны разворачивающиеся осмиофильные пластинчатые тельца (ОПТ). Электронная микрофотография. $\times 42\ 000$.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют, что наиболее высокая поверхностная активность СЛ у морских свинок отмечается в вечернее и ночное время суток, что связано с наиболее высоким содержанием в составе фосфолипидов СЛ наиболее активной в поверхностно-активном отношении фракции фосфатидилхолина. Повышение содержания фосфолипидов СЛ в это время суток может быть следствием усиления синтеза и секреции в альвеолах II типа, что, по-видимому, связано с усилением влияния блуждающего нерва.

SURFACE-ACTIVE PROPERTIES OF THE PULMONARY SURFACTANT AND FUNCTIONAL ACTIVITY OF THE SECOND-TYPE ALVEOLOCYTES IN DIFFERENT PERIODS OF DAY IN THE EXPERIMENT

Crimean Medical Institute, Ministry of Public Health of the Ukrainian SSR, Simferopol.

1. Биркун А. А., Нестеров Е. 1981.— 127 с.
2. Ерохин В. В. Функциона.
3. Нестеров Е. Н., Кобозев. натяжения экстрактов легки и медиции.— 1974.—
4. Шамирзаев Н. Ю., Амиразов. образование сурфактанта в
5. Agrams M., Taylor F. Is lipoprotein // Appl. Physiol
6. Bellet Barthas M., Barthe 1982.— 35, N 7.— P. 371—
7. Crapo J. D., Barry B. E., normal human lung // Am
8. Johnson R. B. Release of 1980.— 35, N 3.— P. 192—
9. Van Gold L. M. G. Synthiol.— 1985.— 47, N 7.— P
10. Stratton C. J. Morphology layer // Pulmonary Surface

Крым. мед. ин-т М-ва здрав
Симферополь

УДК [612.396.18:612.38]:616.45—001

Л. М. Тарасенко, В. К. Григорьев
Т. А. Девяткина

Влияние острого стресса на электрофизиологию изолированной петли

Цель нашего исследования — оценить влияние скорости всасывания на скорость всасывания.

Методика

Эксперименты выполнены на 10 крысах. Острый стресс моделировали с помощью Контресса. Контролем служили интактные крысы. Тонкой кишкой исследовали 10 животных, только голодали в течение 24 часов, ограничивали участок проксимальной двенадцатиперстной кишки длиной ограниченного участка. Через 20 мин после введения этой кишки в участок сшивали в мерные пробирки в те же пробирки. Для измерения ширины участков кишки использовали метод. Определяли также

1. Биркун А. А., Нестеров Е. Н., Кобозев Г. В. Сурфактант легких.— Киев : Здоров'я.— 1981.— 127 с.
2. Ерохин В. В. Функциональная морфология легких.— М. : Медицина.— 1987.— 270 с.
3. Нестеров Е. Н., Кобозев Г. В., Заварзина Г. А. Прибор для изучения поверхностного натяжения экстрактов легких (к изучению сурфактанта) // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1974.— № 2.— С. 120—122.
4. Шамирзаев Н. Ю., Амиров Н. Ф., Шукуров А. А., Умаров Р. А. Выработка и образование сурфактанта в легком // Мед. журн. Узбекистана.— 1983.— 4.— С. 3—7.
5. Abrams M., Taylor F. Isolation and quantitative estimation of pulmonary surface lipoprotein // Appl. Physiol.— 1966.— 21, N 6.— P. 718—720.
6. Bellet Bartheas M., Barthelemy L. Le systeme surfactant pulmonaire // L'ouest med.— 1982.— 35, N 7.— P. 371—381.
7. Crapo J. D., Barry B. E., Gehr P. et al. Cell number and cell characteristics of the normal human lung // Amer. Rev. Physiol.— 1982.— 126, N 2.— P. 332—334.
8. Johnson R. B. Release of lamellar bodies from alveolar type 2 cells // Thorax.— 1980.— 35, N 3.— P. 192—197.
9. Van Gold L. M. G. Synthesis of surfactant lipids in the adult lung // Ann. Rev. Physiol.— 1985.— 47, N 7.— P. 765—774.
10. Stratton C. J. Morphology of surfactant producing cells and of the alveolar lining layer // Pulmonary Surfactant.— Amsterdam: Elsevier, 1984.— P. 98—118.

Крым. мед. ин-т М-ва здравоохранения УССР,
Симферополь

Материал поступил
в редакцию 08.09.88

УДК [612.396.18:612.38]:616.45—001.1/3

Л. М. Тарасенко, В. К. Григоренко, В. М. Осауленко,
Т. А. Девяткина

Влияние острого стресса на резорбцию глюкозы изолированной петлей тонкой кишки

Вопрос о влиянии стрессорных факторов на резорбтивную функцию тонкой кишки недостаточно изучен. Имеются указания на преимущественное повреждение механизмов мембранного пищеварения при стрессе, который воспроизводили длительным введением преднизолона [3], что, по нашему мнению, не является его адекватной моделью. Под влиянием укачивания в условиях хронического эксперимента резорбтивная функция тонкой кишки значительно угнеталась; эти изменения авторы объясняют усилением импульсации по симпатическим путям [4].

Цель нашего исследования — изучить характер влияния острого стресса на скорость всасывания глюкозы в тонкой кишке.

Методика

Эксперименты выполнены на 12 крысах-самцах линии Вистар массой 180—250 г. Острый стресс моделировали трехчасовой иммобилизацией с погружением в воду. Контролем служили интактные животные. Резорбцию глюкозы изолированной петлей тонкой кишки исследовали *in situ* на наркотизированных крысах, которые предварительно голодали в течение суток. После вскрытия брюшной полости лигатурами ограничивали участок проксимального отдела тощей кишки длиной 10—13 см, расположенной непосредственно за двенадцатиперстной кишкой. С помощью шприца в полость ограниченного участка вводили 1 мл изотонического раствора глюкозы. Через 20 мин после введения этого раствора участок тонкой кишки вырезали. Содержимое участков сливали в мерные пробирки, участки промывали 5,0 мл воды, которую собирали в те же пробирки. Для определения площади слизистой оболочки измеряли длину и ширину участков кишки [1]. Концентрацию глюкозы определяли ортотолуидиновым методом. Определяли также интенсивность всасывания глюкозы ($\text{мкмоль} \cdot \text{мин}^{-1} \cdot \text{см}^{-2}$).

Животных забивали кровопусканием под гексеналовым наркозом. Выраженность