

С.В. Антонюк

Дніпропетровська міська
клінічна лікарня № 19,
Дніпропетровський міський
онкологічний центр

Роль системи сурфактанту в патогенезі пневмопатії, спричиненої тривалою дією іонізуювального випромінення в низьких дозах

The role of surfactant system in pathogenesis
of pneumopathy caused by long-term low-dose
irradiation

Цель работы: Комплексное изучение состояния системы сурфактанта легких и ее взаимосвязи с морфологическими изменениями респираторного отдела крыс, подвергшихся длительному действию облучения.

Материалы и методы: Проведено комплексное физико-химическое и биохимическое исследование системы сурфактанта легких крыс линии Вистар, подвергнутых дозированному облучению (0,01Гр/сут., при мощности дозы 1,67 мГр/мин) в течение 25 суток в суммарной дозе 0,25 Гр. Исследования проводили на 1-е сутки после завершения облучения.

Результаты: Длительное воздействие низких доз радиационного облучения приводило к активации адаптационных механизмов респираторного отделов легких, которые сопровождалась высокой функциональной активностью механизмов синтеза, секреции и катаболизма сурфактанта. Активация системы последнего приводила к накоплению поверхностно-активных веществ в просвете альвеолы, снижению внутриальвеолярного давления и ретрактивных свойств легких и развитию хронической панацинарной эмфиземы. Высокий уровень процессов катаболизма сопровождался увеличением продуктов гидролиза фосфолипидов сурфактанта — жирных кислот и лизофосфатидилхолина. Накопление лизосоединений способствует развитию дистрофически-деструктивных и воспалительных изменений в аэрогематическом барьере и диффузному склерозу.

Выводы: Длительное действие низких доз радиации приводит к неспецифической активации адаптационных механизмов респираторного отдела легких, накоплению сурфактанта и продуктов катаболизма его основных компонентов с развитием хронической панацинарной эмфиземы, дистрофически-деструктивных и воспалительных изменений в паренхиме легких.

Ключевые слова: хроническое облучение, низкие дозы, система сурфактанта легких, эмфизема легких.

Objective: Complex investigation of the pulmonary surfactant system and its relationship with morphological changes of respiratory portions of the lungs in rats after chronic low-dose irradiation.

Material and Methods: Wistar male rats were exposed to total x-ray irradiation at a dose of 0.25 Gy (0,01 Gy per day at dose rate of 1.67 mGy/min) for 25 days. After that the rat lungs were examined physico-chemically and biochemically on the 1st day.

Results: Chronic low-dose irradiation caused activation of the adaptive mechanism of respiratory portions of the lungs which manifested by high functional activity of synthesis, secretion, and catabolism mechanisms of surfactant. Surfactant system activation led to accumulation of surface-active compounds in the alveolar lumen, decreasing of intraalveolar tension, and retractive features of lungs, and development of chronic panacinar emphysema. High level of surfactant catabolism was accompanied by increase of phospholipid hydrolysis products — fatty acids and lysophosphatidylcholin. Lysocompounds accumulation promoted development of degenerative-destructive and inflammatory changes in the air-blood barrier and diffuse sclerosis.

Conclusion: Long action of low-dose radiation leads to nonspecific activation of respiratory portion adaptive mechanisms, accumulation of surfactant and catabolism products with development of chronic panacinar emphysema, degenerative-destructive and inflammatory changes the lung parenchyma.

Key words: chronic irradiation, low doses, pulmonary surfactant system, pulmonary emphysema.

Активне впровадження нових технологій у промисловість та інші галузі народного господарства в результаті науково-технічного прогресу, розвиток атомної енергетики і застосування в медицині радіоізотопних методів дослідження призводять до надходження в атмосферу шкідливих речовин та забруднення, зокрема радіаційного, навколишнього середовища. Екологічне навантаження довкілля зумовлене також такими викидами, пов'язаними з катастро-

фою на Чорнобильській АЕС та її наслідками [1, 2].

Згідно із сучасними уявленнями, діючий екзогенний чинник будь-якої природи (хімічної, фізичної чи біологічної) спричиняє дестабілізацію фізіологічних реакцій та призводить до порушення гомеостазу внутрішнього середовища [3]. Найчутливіші до дії чинника лабільні системи, до яких належать система сурфактанту легень (ССЛ) [4]. Важливість її вивчення

пов'язана з різнобічністю та важливістю функцій, виконуваних сурфактантом, його місцем у патогенезі багатьох захворювань органів дихання. У низці надзвичайно важливих функцій ССЛ є запобігання колапсу альвеол на видиху, зменшення транссудації у просвіт альвеол, винесення з потоком сурфактанту з альвеолярної поверхні найдрібніших пилових часточок та мікробів, запобігання експіраторному закриттю термінальних бронхіол та дрібних бронхів тощо [4, 5]. Здійснення багатьох з цих функцій можливе лише за наявності на альвеолярній поверхні поверхнево-активних речовин, тобто сурфактанту.

Відомо, що йонізувальне випромінювання негативно впливає на організм, призводячи, залежно від дози, до суттєвих структурно-функціональних порушень, зокрема й у легеневій тканині [6, 7]. Якщо вплив високих доз на організм достатньо вивчений, то окремі дослідження відносно низьких доз свідчать про наявність порушень у легенях, але не дають повного уявлення про механізми розвитку змін. Даних щодо стану ССЛ за умов дії йонізувального випромінювання у низьких дозах у літературі ми не знайшли.

Виходячи з наведеного вище, за мету дослідження ми обрали вивчення стану ССЛ в умовах тривалої дії йонізувального випромінювання у низьких дозах, визначення ступеня пошкодження окремих її ланок та ролі виявлених порушень у пато- та морфогенезі радіаційної пневмопатії.

Методика дослідження

Проведено комплексне фізико-хімічне та біохімічне дослідження ССЛ за умов тривалої дії йонізувального випромінювання в низьких дозах. Дослідження проводили на 20 білих щурах лінії Вістар масою 150–200 г.

Тварини підлягали тотальному тривалому (фракціонованому) рентгенівському опроміненню в дозі 0,25 Гр протягом 25 діб з добовою дозою 0,01 Гр. Опромінювання проводили за допомогою рентгенівської установки РУМ-17 [6]. Контрольну групу склали 40 тварин, яких піддавали «удаваному» опромінюванню з використанням свинцевого екрану в такі самі терміни, як і дослідну групу. Щурів виводили з експерименту через 1 добу після легкого ефірного наркозу.

Систему сурфактанту легень досліджували за допомогою фізико-хімічних та біохімічних методів. Тканину легень подрібнювали на кріостаті. Брили шматочки масою до 500 мг, екстрагували органічними розчинниками за загальноприйнятою методикою [8]. Фізико-хімічні властивості фосфоліпідів сурфактанту досліджували на установці типу терезів Вільгельмі [4]. Поверхневу активність оцінювали ізотермами стиснення-роз-

тягнення шляхом визначення мінімального поверхневого натягу (ПН_{min}). Кількість фосфоліпідів (ФЛ) у тканині легень визначали за [9]. Якісний склад сурфактанту досліджували за допомогою тонкошарової хроматографії [10, 11]. Відсотковий вміст загальних ліпідів та нейтральних ФЛ розраховували за денситограмами. Серед загальних ліпідів вивчали ФЛ, холестерин, вільні жирні кислоти, ди- і тригліцериди та ефіри холестерину, серед нейтральних ФЛ — лізофосфатидилхолін (ЛФХ), сфінгомієлін, фосфатидилхолін (ФХ) та фосфатидилетаноламін (ФЕА). Активність гідролітичних процесів основних компонентів сурфактанту легень оцінювали за показником фосфоліпазної активності (ПФА) [9]. Активність трипсину визначали за ступенем розщеплення синтетичного субстрату БАПНА (N- α -бензоїларгінін-*p*-нітроаналаду) [12].

Оскільки кожна система є рівноважним станом постійнодіючих різнонаправлених процесів [13], ССЛ розглядали як сукупність двох різнонаправлених підсистем, спрямованих на підтримання системоутворюючого фактора — власне сурфактанту [14]. До таких підсистем відносили систему синтезу та секреції сурфактанту й систему катаболізму його основних компонентів.

Отже, систему синтезу та секреції сурфактанту легень оцінювали за ПН_{min} ФЛ сурфактанту, кількістю ФЛ у легеневій тканині, вмістом ФЛ та ди- і тригліцеридів у спектрі загальних ліпідів і фосфатидилхоліну — у складі нейтральних ФЛ. Оцінку системи катаболізму сурфактанту проводили за вмістом ЛФХ і вільних жирних кислот у спектрі загальних ліпідів та нейтральних ФЛ відповідно та ПФА. Крім стандартного набору показників, які використовують для характеристики системи катаболізму сурфактанту, нами введений показник активності трипсину, який забезпечує регуляцію активності основного фермента — фосфоліпази A_2 [15].

Результати досліджень обробляли за допомогою стандартних прийомів варіаційної статистики [16].

Результати та їх обговорення

На підставі проведеного комплексного дослідження ССЛ за умов тривалого впливу йонізувального випромінювання у низьких дозах виявлені суттєві зміни фізико-хімічних та біохімічних властивостей систем синтезу, секреції сурфактанту та катаболізму його основних компонентів.

Показники функціональної активності системи синтезу та секреції сурфактанту значно зростали (табл. 1). Кількість ФЛ у легеневій тканині вірогідно збільшувалася з $5,92 \pm 0,07$ мг/г в контролі до $7,50 \pm 0,81$ мг/г у експерименті. Накопичення ФЛ у легенях призводило до значного збільшення поверхнево-активних властивостей сурфактанту, про що свідчить значне зниження ПН_{min} до $6,25 \pm 1,07$ мН/м (в контролі — $16,98 \pm 0,71$ мН/м). Відсотковий вміст ФЛ у складі загальних ліпідів також вірогідно збільшувався, тоді як вміст фосфатидилхоліну зменшувався. Відзначено низький вміст ди- і тригліцеридів у експерименті, що може також свідчити

Фізико-хімічні та біохімічні зміни системи сурфактанту легень
за умов тривалої дії йонізуючого випромінювання у низьких дозах
*Physical-chemical and biochemical changes in surfactant system of the lungs
at long-term action of low-dose radiation*

Показник	Контроль n = 40	Експеримент n = 20
ПН _{min} ФЛ, мН/м	16,98 ± 0,71	6,25 ± 1,07*
Кількість ФЛ в тканині легень, мг/г	5,92 ± 0,07	7,50 ± 0,81*
<i>Загальні ліпіди, %:</i>		
фосфоліпіди	25,42 ± 2,28	36,14 ± 2,80*
холестерин	26,87 ± 1,19	14,05 ± 2,75*
вільні жирні кислоти	9,31 ± 0,62	13,52 ± 1,66*
ди- і тригліцериди	22,87 ± 2,14	16,16 ± 2,79*
ефіри холестерину	15,53 ± 2,43	20,13 ± 3,87
<i>Нейтральні ФЛ, %:</i>		
лізофосфатидилхолін	1,64 ± 0,44	2,61 ± 0,43*
сфінгомієлін	18,85 ± 1,01	9,04 ± 1,55*
фосфатидилхолін	45,73 ± 1,67	34,03 ± 3,21*
фосфатидилетаноламін	38,78 ± 1,52	54,32 ± 3,21*
ПФА	3,72 ± 0,33	7,86 ± 1,34*
Активність трипсину, пмоль п-НА/хв на 1 мг білка	13,80 ± 3,60	103,20 ± 15,60*

Примітка. * — різниця вірогідна ($p < 0,05$) між контрольною групою та експериментом.

про посилення функціональної активності системи синтезу та секреції сурфактанту [8].

В нормі видих на 3/4 забезпечується силами поверхневого натягу [17]. Сурфактант на альвеолярній поверхні на межі гіпофаза—повітря формує шар, молекули якого на висоті вдиху розташовуються на значній відстані одна від одної, а сили поверхневого натягу за рахунок максимальних величин запобігають перерозтягненню альвеол та створюють сприятливі умови для видиху. На висоті останнього молекули сурфактанту на альвеолярній поверхні максимально зближуються, значно знижуючи поверхневий натяг та створюючи умови для вдиху і відображуючи амплітуду дихання. При надлишку на альвеолярній поверхні сурфактанту кількість молекул поверхнево-активних речовин на одиницю площі на висоті вдиху значно збільшиться, що призведе згідно із законом Юнга—Лапласа [5] до значного зниження поверхневого натягу на межі фаз гіпофаза—повітря та зменшення сили вдиху, тобто зменшення амплітуди дихання. Отже, накопичення ФЛ у легенях, а тому й на альвеолярній поверхні, за умов тривалого впливу йонізуючого ви-

промінювання у низьких дозах також призведе до зниження внутріальвеолярного тиску та ретрактивних властивостей легень.

Відомо, що на рівні респіраторного відділу за вищенаведених умов у легенях розвивається панацінарна емфізема [6]. Таким чином, можна твердити, що одним із основних механізмів розвитку емфіземи легень при радіаційній пневмопатії є накопичення поверхнево-активних речовин унаслідок активації системи синтезу та секреції сурфактанту.

Рівень функціональної активності системи катаболізму сурфактанту легень за умов тривалого впливу випромінювання також значно підвищувався (див. табл. 1). Вміст вільних жирних кислот у легенях вірогідно зростав і становив $13,52 \pm 1,66$ % порівняно з контрольною величиною ($9,31 \pm 0,62$ %) при незначному збільшенні ЛФХ; ПФА збільшувався до $7,86 \pm 1,34$, що вдвічі вище контрольного показника ($3,72 \pm 0,33$). Значно зростала активність трипсину — фермента, який регулює активність фосфоліпази A_2 шляхом перетворення профермента в активну його форму [8].

Високий рівень системи катаболізму сурфактанту, на нашу думку, може бути не тільки наслідком безпосереднього впливу йонізуючого випромінювання на систему або відповідною реакцією на активацію системи синтезу і секреції та збільшення сурфактанту в легенях, але й комбінації зазначених причин. Високий вміст продуктів катаболізму сурфактанту негативно впливає на легеневу тканину, зокрема, вільні жирні кислоти та ЛФХ є сильними ефекторами мембранних процесів, негативно впливають на тканинне дихання та окиснювальне фосфорилування [18]. Крім того, лізосполуки можуть безпосередньо пошкоджувати альвеолярний епітелій [19, 20].

Однією з основних теорій розвитку емфіземи легень вважають порушення балансу в системі протеази-антипротеази [21]. Отже, висока активність трипсину також може свідчити про посилення протеолітичних процесів, наслідком чого може бути розвиток структурно-функціональних змін у аерогематичному бар'єрі.

На підставі одержаних результатів ми запропонували схему патогенетичних механізмів розвитку пневмопатії за участю ССЛ, спричиненої тривалою дією низьких доз йонізуючого випромінювання (рис.1). Отже, саме воно є неспецифічним фактором, що призводить до активації адаптаційних механізмів респіраторного відділу легень. Система сурфактанту — одна



Рис.1. Роль системи сурфактанту легень у розвитку пневмопатії, спричиненої тривалою дією йонізуючого випромінювання
 Fig 1. The role of lung surfactant system in pneumopathy development caused by low-dose ionizing radiation

з найбільш лабільних у респіраторному відділі легень, що реагують на дію патогенного чинника активацією механізмів синтезу та секреції основних компонентів з надлишковим накопиченням сурфактанту на альвеолярній поверхні, зниженням внутріальвеолярного тиску та ретрактивних властивостей і розвитком емфіземи.

Активация системи катаболізму сурфактанту легень, яка відбувається як унаслідок безпосереднього впливу йонізувального випромінення, так і у відповідь на високий рівень системи синтезу та секреції сурфактанту, призводить до накопичення в організмів лізосполук і вільних жирних кислот та супроводжується розвитком дистрофічних і деструктивних змін у аерогематичному бар'єрі, запаленням та дифузним інтерстиційним склерозом. Отже, на основі проведеного дослідження можна з упевненістю сказати, що ССЛ посідає одне із провідних місць у патогенезі розвитку патологічних змін при радіаційній пневмопатії, спричиненій тривалим впливом йонізувального випромінення в низьких дозах.

ВИСНОВКИ

1. Тривала дія йонізувального випромінення у низьких дозах призводить до активації адаптаційних механізмів респіраторного відділу легень, насамперед системи сурфактанту.

2. Високий рівень функціонування системи синтезу та секреції сурфактанту супроводжується надлишковим накопиченням поверхнево-активних речовин на альвеолярній поверхні, що може призводити до зниження внутріальвеолярного тиску та ретрактивних властивостей легень і розвитку емфіземи.

3. Активация системи катаболізму сурфактанту легень призводить до накопичення шкідливих сполук у легеневій тканині, зокрема лізосполук із властивою їм мембранолітичною дією, які поряд з іншими чинниками можуть призводити до дистрофічно-деструктивних змін, спричиняти запальні процеси та сприяти розвитку радіаційного пневмоніту.

Література

1. Ильин А.А., Крючков В.П., Осинев Д.П., Павлов Д.А. // *Радиационная биология. Радиоэкология*. — 1995. — Т.35, вып.6. — С. 803–828.

2. Трахтенберг И.М., Колесников В.С., Луковенко В.П. *Тяжелые металлы во внешней среде: Современные гигиенические и токсикологические аспекты*. — Минск: Наука и техника, 1994. — 285 с.
3. Гончарук Є.Г., Коршун М.М. // *Журн. АМН України*. — 2004. — Т.10, № 1. — С. 131–150.
4. Биркун А.А., Нестеров Е.Н., Кобозев Г.В. *Сурфактант легких*. — К.: Здоров'я, 1981. — 160 с.
5. Березовский В.А., Горчаков В.Ю. *Поверхностно-активные вещества легкого*. — К.: Наук. думка, 1982. — 168 с.
6. Антонюк С.В., Коцарев О.С., Лихолат О.А. // *УРЖ*. — 2002. — Т. X, вып. 3. — С. 249–253.
7. Johnston C.J., Williams J.P., Okunieff P., Finkelstein J.N. // *Radiat. Res.* — 2002. — Vol.157, № 3. — P. 256–265.
8. Кучеренко Н.Е., Васильев А.Н. *Липиды*. — К.: Вища шк., 1985. — 293 с.
9. Антонюк С.В., Коцарев О.С. // *Мед. перспект.* — 2002. — № 2. — С. 25–29.
10. Кирхнер Ю. *Тонкослойная хроматография: Пер. с англ.* — М.: Мир, 1981. — Т.1. — 616 с.
11. Кирхнер Ю. *Тонкослойная хроматография: Пер. с англ.* — М.: Мир, 1981. — Т.2. — 524 с.
12. Карягина И.Ю., Зарембский Р.А., Балябина М.Д. // *Лаб. дело*. — 1990 — № 2. — С. 10–13.
13. *Основы физиологии функциональных систем / Под ред. К.В.Судакова*. — М.: Медицина, 1983. — 272 с.
14. Неводник В.И., Коцарев О.С., Беленький И.В. // *Пат. физиол. и эксперим. тер.* — 1985. — Вып.4. — С. 86–89.
15. Пат. 12093 Україна, МКИ А61В 5/00. Спосіб оцінки системи катаболізму сурфактанту легень / О.А. Лихолат, С.В. Антонюк, О.С. Коцарев. — Заявл. 01.08.2005; Опубл. 16.01.2006, Бюл. № 1. — 3 с.
16. Лакін Л.Ф. *Биометрия*. — Изд. 3-е. — М., 1990. — 293 с.
17. Кузнецова Т.Д. *Возрастные особенности дыхания детей и подростков*. — М.: Медицина, 1986. — 128 с.
18. Сыромятникова Н.В., Гончарова В.А., Котенко Т.В. *Метаболическая активность легких*. — Л.: Медицина, 1987. — 168 с.
19. Aronson J.F., Johns L.M. // *Exp. & Mol. Pathol.* — 1977. Vol.27, № 1. — P. 35–43.
20. Niewoehner D.E., Rice R., Sinha A. et al. // *J. App. Physiol.* — 1987. — Vol. 63, № 5. — P.1979–1986.
21. Shapiro S.D. // *Eur. Respir. J.* — 2003. — № 44. — P.30s–32s.

Надходження до редакції 04.04.2006.

Прийнято 17.05.2006.

Адреса для листування:

Антонюк Степан Васильович,
Дніпропетровська клінічна лікарня № 19,
Міський онкологічний центр,
вул. Космічна, 21, Дніпропетровськ, 49100, Україна