

Л.М. Заяць

## Вплив діоксиду сірки на поверхневу активність сурфактанта легень та ультраструктуру альвеолоцитів II типу

*В опытах на 108 белых крысах-самцах электронно-микроскопическими и физическими методами изучено в динамике (1 ч, 24 ч и 7 сут) состояние сурфактантной системы легких под влиянием диоксида серы в концентрациях 0,05 и 0,5 мг/м<sup>3</sup>. Установлено, что он приводит к снижению поверхностной активности сурфактанта легких, обусловленной нарушением ультраструктуры альвеолоцитов II типа. Наиболее выраженные изменения сурфактантной системы легких отмечаются при ингаляции диоксида серы в концентрации 0,5 мг/м<sup>3</sup>.*

### ВСТУП

Упродовж останніх років біосфера України потерпає від значного антропогенного навантаження. Від негативного впливу викидів промислових підприємств в атмосферу страждає понад 30 % населення [3, 10]. Проведений аналіз клінічних та експериментальних робіт довів пряму кореляційну залежність рівня забруднення атмосферного повітря та частоти виникнення легеневої патології [9, 11, 13, 14].

Основними речовинами, які забруднюють повітря Прикарпаття є оксиди вуглецю та азоту, хлор, хлористий водень, пил. Але найбільшу частку (близько 60 %) становить діоксид сірки (SO<sub>2</sub>) [5, 8].

Встановлено, що основною патогенетичною ланкою в розвитку легневих захворювань є порушення поверхневої активності сурфактанта легень, синтез і секреція якого здійснюється альвеолоцитами II типу (А-II) [7, 15, 16]. Нині в літературі не описано повної характеристики стану сурфактантної системи легень (ССЛ) при дії діоксиду сірки.

Мета цієї роботи – комплексне вивчення змін поверхневої активності сурфактан-

та легень та ультраструктури А-II під впливом діоксиду сірки.

### МЕТОДИКА

Дослідження проведено на 108 білих щурах-самцях масою 180–220 г. Контролем були щури, які знаходилися в камері, але не вдихали діоксид сірки. Дослідних тварин піддавали інгаляційній затравці протягом 4 год діоксидом сірки різної концентрації: I група – 0,05 мг/м<sup>3</sup>, II група – 0,5 мг/м<sup>3</sup>. Для вивчення дії SO<sub>2</sub> на ССЛ використовували затравочну камеру місткістю 160 л. Концентрацію SO<sub>2</sub> в робочому об'ємі камери вимірювали за допомогою приладу ФГ-01-1-01, в основі роботи якого лежить метод спектрального сканування. Забір легеневої тканини для морфологічних і фізико-хімічних досліджень проводили під гексеналовим наркозом через 1 год, 24 год та 7 діб.

Для електронно-мікроскопічних досліджень матеріал фіксували в 2,5%-му розчині глютаральдегіду з наступною дофіксацією в 1%-му розчині чотириокису осмію. Після дегідратації в спиртах шматочки легеневої тканини заливали в суміш епону з аралди-

том. Зрізи, отримані на ультрамікротомі „LKB” вивчали в електронному мікроскопі „Hitachi-HU-12”.

Для дослідження поверхневої активності сурфактанта легень використовували бронхоальвеолярні змиви, які одержували за допомогою промивання легень фізіологічним розчином. За допомогою диференціального центригування за Abrams [12], з них виділяли поверхнево-активну фракцію та вивчали її поверхневий натяг ( $\text{ПН}_{\text{max}}$  і  $\text{ПН}_{\text{min}}$ ) [6].

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Проведені дослідження показали, що протягом перших 24 год не спостерігалось істотних змін ССЛ у дослідних тварин I групи (дихання  $\text{SO}_2$  в концентрації  $0,05 \text{ мг/м}^3$ ). Результати, отримані через 7 діб після інгаляційного впливу діоксиду сірки свідчать про порушення ультраструктури компонентів А-II. У деяких клітинах спостерігається просвітлення матриксу мітохондрій, розширення каналців гра-

нулярної ендоплазматичної сітки. З'являються нерівномірні проміжки між бімембранними осмієфільними пластинами.

Встановлено, що на даному етапі експерименту визначається пригнічення поверхневої активності сурфактанту легень. Про зменшення його поверхнево-активних властивостей свідчить підвищення  $\text{ПН}_{\text{min}}$  поверхнево-активної фракції до  $20,9 \text{ мН/м} \pm 0,4 \text{ мН/м}$  (у контролі –  $14,1 \text{ мН/м} \pm 0,1 \text{ мН/м}$ ;  $P < 0,001$ ), (рис. 1) при одночасному статистично достовірному зменшенні індексу стабільності з  $0,93 \pm 0,02$  до  $0,68 \pm 0,01$  ( $P < 0,001$ ).

Найбільш виражені зміни ССЛ спостерігалися у тварин, які піддавалися інгаляційному впливу  $\text{SO}_2$  в концентрації  $0,5 \text{ мг/м}^3$  (II група). Так, уже через 1 год після гострого отруєння електронно-мікроскопічно виявлено зміни ультраструктури компонентів А-II. У цитоплазмі клітин відмічається зменшення кількості осмієфільних пластинчастих тілець. Деякі з них деформовані, частково заповнені фосфоліпідним матеріалом з дезорганізовани-

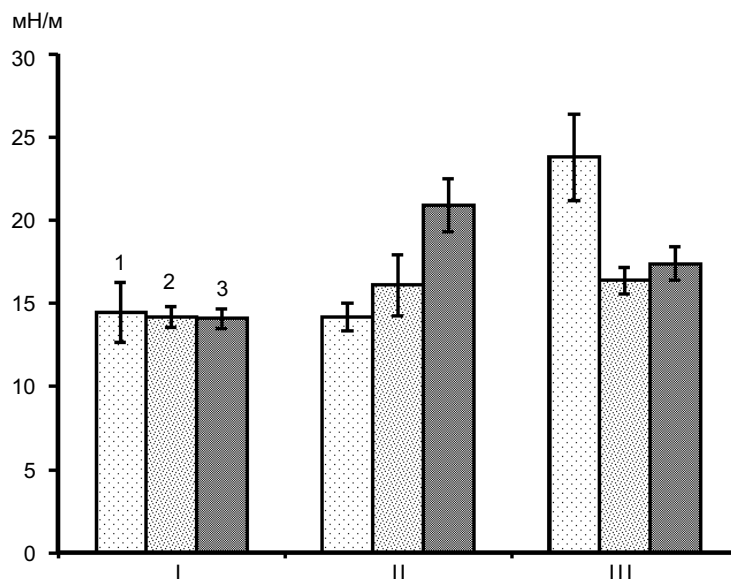


Рис. 1. Зміни показників мінімального поверхневого натягу поверхнево-активної фракції бронхоальвеолярних змивів легень білих щурів при дії діоксиду сірки ( $\text{SO}_2$ ):

I – контроль; II – концентрація  $\text{SO}_2$  –  $0,05 \text{ мг/м}^3$ ; III – концентрація  $\text{SO}_2$  –  $0,5 \text{ мг/м}^3$ ; 1 – забір матеріалу через 1 год, 2 – через 24 год, 3 – через 7 діб

ми та фрагментованими бімембранними осмієфільними пластинами. У деяких А-II на місці осмієфільних пластинчастих тілець спостерігаються вакуолі із залишками мембран. Для мітохондрій, у цей період експерименту, характерним є збільшення їх розмірів, вкорочення і дезорієнтація крист. У більшості А-II каналці ендоплазматичної сітки розширені (рис. 2,а). При цьому на мембранах гранулярної ендоплазматичної сітки визначається значне зменшення кількості рибосом. Зона комплексу Гольджі розширена та складається із численних каналців і міхурців. Вищевказані зміни в ультраструктурі компонентів А-II призводять до порушення процесів синтезу та секреції останніми сурфактанта легень. Це, в свою чергу, відображується на поверхневому натягу поверхнево-активної фракції сурфактанта легень. Про значне зниження поверхнево-активних властивостей сурфактанта легень свідчить підвищення  $ПН_{\min}$  поверхнево-активної фракції до  $23,8 \pm 0,6$  (у контролі –  $14,5 \pm 0,4$ ;  $P < 0,001$ ), (див. рис. 1) при одночасному зменшенні індексу стабільності з  $0,97 \pm 0,02$  до  $0,67 \pm 0,02$  ( $P < 0,001$ ).

Результати ультраструктурного дослідження, проведеного через 24 год, дали змогу виявити зміни з боку популяції А-II. Разом з поодинокими дистрофічно зміненими клітинами, спостерігається значна кількість А-II з ознаками підвищеної функціональної активності. В цитоплазмі переважають мітохондрії неправильної форми з помірним електроннощільним матриксом. Канальці гранулярної цитоплазматичної сітки багаті рибосомами, гіпертрофовані. Компоненти комплексу Гольджі помірно розширені. Слід відзначити, що в цитоплазмі А-II визначається підвищена кількість як осмієфільних пластинчастих тілець, так і їх попередників – мультивезикулярних тілець. Останні являють собою групу міхурців, оточених спільною

одинарною мембраною. В А-II, які знаходяться в стані підвищеної функціональної активності, відмічається злиття мембран осмієфільних пластинчастих тілець з апікальною частиною плазмолемі із наступним вивільненням осмієфільного пластинчастого матеріалу в просвіт альвеоли (див. рис. 2,б).

Поява гіперфункціонуючих А-II супроводжується деякою нормалізацією показників, що характеризують поверхневу активність сурфактанта легень. Так, мінімальний поверхневий натяг поверхнево-активної фракції сурфактанта легень

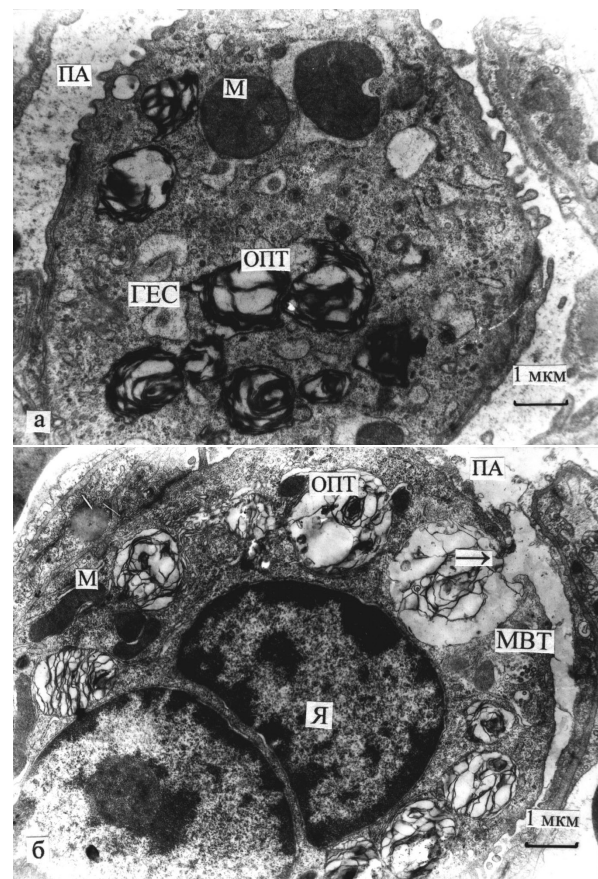


Рис. 2. Ультраструктурні зміни альвеолоцитів II типу при дії діоксиду сірки в концентрації  $0,5 \text{ мг/м}^3$  через 1 год (а) і 24 год (б) після початку експерименту: Я – ядро; М – мітохондрії; ГЕС – гранулярна ендоплазматична сітка; ОПТ – осмієфільні пластинчасті тільця; МВТ – мультивезикулярні тільця; ПА – просвіт альвеоли; злиття ОПТ з апікальною частиною плазмолемі (стрілка)

у даний період експерименту знижується і становить  $16,4 \text{ мН/м} \pm 0,2 \text{ мН/м}$  (у контролі –  $14,2 \text{ мН/м} \pm 0,1 \text{ мН/м}$ ;  $P < 0,001$ ), (див. рис. 1). При цьому індекс стабільності Клемента сягає контрольних значень  $0,99 \pm 0,01$  (у контролі –  $1,02 \pm 0,01$ ;  $P > 0,05$ ).

Зі збільшенням терміну впливу  $\text{SO}_2$  (7 діб) у багатьох А-II спостерігаються ознаки набряку у вигляді нерівномірних просвітлень цитоплазми. Мітохондрії округлої форми з матриксом слабкої електронної щільності і редукованими кристами. Компоненти комплексу Гольджі та цитоплазматичної сітки розширені. Значна частина пластинчастих тілець знаходиться на різних стадіях вакуолізації. Разом з тим в окремих клітинах осмієфільні пластинчасті тільця зберігають будову, типову для інтактних тварин. Порушення ультраструктури А-II відображається на стані поверхневої активності сурфактанта легень, яка має тенденцію до зниження, про що свідчить збільшення  $\text{ПН}_{\text{min}}$  поверхнево-активної фракції до  $17,4 \text{ мН/м} \pm 0,2 \text{ мН/м}$  (у контролі  $14,1 \text{ мН/м} \pm 0,1 \text{ мН/м}$ ;  $P < 0,001$ ), (див. рис. 1).

Відомо, що ССЛ складається з клітинного компонента, який представлений А-II і шаром рідини, що вкриває альвеоли зсередини. Останній, в свою чергу складається з двох фаз: мономолекулярної плівки, яка знаходиться на міжфазовій границі „рідина – повітря” і гіпофази – шару рідини, що вкриває безпосередньо альвеолярний епітелій. Характерною особливістю ультраструктурної будови А-II є наявність у них осмієфільних пластинчастих тілець, які є основним депо фосфоліпідів [1, 7]. Кількість і розміри таких тілець, як і їх попередників мультивезикулярних тілець, різні і визначаються функціональним станом клітини. Лізис клітинної мембрани в місцях її контакту з осмієфільними пластинчастими тільцями відбувається, очевидно, за участю гідролітичних ферментів, зокрема кислоти фосфата-

зи, що знаходиться в пластинчастих тільцях [1].

Таким чином, нами встановлено, що між станом ультраструктури А-II і поверхневою активністю сурфактанта легень існує тісний структурно-функціональний взаємозв'язок, який визначає залежність змін поверхнево-активних властивостей сурфактанта легень від характеру змін ультраструктури компонентів А-II.

Отримані результати дослідження збігаються з літературними даними [1, 2, 7] і свідчать про високу чутливість сурфактантної системи легень до дії різних екзо- і ендогенних факторів.

## ВИСНОВКИ

1. Гостре отруєння дослідних тварин діоксидом сірки супроводжується зниженням поверхнево-активних властивостей сурфактанта легень.

2. Зміни поверхневої активності сурфактанта легень корелюють з функціональним станом альвеолоцитів II типу.

3. Ступінь вираженості та характер змін у сурфактантній системі легень залежать від концентрації діоксиду сірки і часу з моменту первинної альтерації полютанта.

L. M. Zayats

## CHANGES IN SUPERFICIAL ACTIVITY OF THE LUNGS SURFACTANT AND THE ULTRASTRUCTURE OF ALVEOLOCYTES OF THE II TYPE UNDER THE ACTION OF SULFUR DIOXIDE.

Condition of the surfactant lungs system under sulfur dioxide action in concentration of  $0,05 \text{ mg/m}^3$  and  $0,5 \text{ mg/m}^3$  was studied in dynamics (1 hour, 24 hours, 7 days) during the investigation of 108 white rat-males with the help of electronic-microscopic and physic methods. We established that sulfur dioxide decreases the surface activity of the lungs surfactant, damages the ultrastructure of II type of alveolocyttes. The greatest changes of the surfactant lung system were induced by inhalation of sulfur dioxide in concentration of  $0,5 \text{ mg/m}^3$ .

Ivano-Frankivsk Medical Academy

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ерохин В. В. Функциональная морфология респираторного отдела легких. – М.: Медицина, 1987. – 272 с.
2. Загоруйко А., Биркун А., Новиков Н. Сурфактантная система легких и заместительная сурфактантная терапия. – Симферополь: Изд-во Крым. мед. ин-та, 1995. – 74 с.
3. Зайков С. В. Екологічні аспекти пульмонології. – У кн.: П'їзд фтизіатрів і пульмонологів України: Матеріали наук. праць з'їзду. – К., 1998. – С. 108–109.
4. Зильбер А. П. Респираторная медицина. Этюды критической медицины, Т.2 – Петрозаводск: Изд-во Петрозавод. ун-та, 1996. – 488 с.
5. Мазепа І. В., Шестаков В. І., Заяць Л. М. Техногенне забруднення біосфери Прикарпаття та його вплив на захворюваність населення: Зб. наук. праць "Здоров'я та відтворення народу Прикарпаття". – Івано-Франківськ. – 1993. – С. 57.
6. 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.
7. Нестеров Е. Н., Паневская Г. Н. Сурфактантная система легких и коррекция ее нарушений при бронхолегочных заболеваниях // Пульмонология. – 2000. – № 3. – С. 19–25.
8. Нечитайло Ю. М. Застосування сучасних епідеміологічних методів у аналізі впливу екологічних факторів на захворюваність органів дихання у дітей // Укр. пульмонол. журн. – 1997. – № 4 – С. 45–47.
9. Путинцев В. И., Витрищак В. Я., Сысойкина Т. В. и др. Экологические аспекты патогенеза неспецифических заболеваний легких // Укр. пульмонол. журн. – 1996. – № 2. – С. 43–46.
10. Сердюк А. М. Екологічна ситуація в Україні і здоров'я людини: теперішній стан та шляхи профілактики // Журн. АМН України. – 1997. – 3, № 2. – С. 218–230.
11. Фещенко Ю. І. Сучасні проблеми пульмонології // Укр. пульмонол. журн. – 1997. – № 2. – С. 3–8.
12. Abrams M., Taylor F. Isolation and quantitative estimation of pulmonary surface lipoprotein // J. App. Physiol. – 1996. – 21, № 6. – P. 718–720.
13. Harre E. S., Price P. D., Ayrey R. et al. Respiratory effects of air pollution in chronic obstructive pulmonary disease: a three month prospective study // Thorax. – 1997. – 52, № 12. – P. 1040–1044.
14. Leduc D., De Vuyst P., Yernault J.C. Respiratory toxicity due to atmospheric pollutants. General review and a study of the relation to respiratory infections respiratoires // Rev. Mal. Resp. – 1995. – 12, № 1. – P. 13–23.
15. Scarpelly E. M. The surfactant system and an exploration of the symbols // Appl. Cardiopulm. Pathophysiol. – 1995. – 5, Suppl. 1. – P. 135–139.
16. Wright J. P., Dobbs L. G. Regulation of pulmonary surfactant secretion and clearance // Ann. Rev. Physiol. – 1991. – 53. – P. 395–414.

*Івано-Франків. мед. академія МОЗ України*

*Матеріал надійшов до редакції 09.06.2003*