

Изменение внутри- и внеклеточного пула фосфатидилхолинов и ферментативный гидролиз дипальмитоилфосфатидилхолина при повреждении легких блеомицином

Полученные нами данные свидетельствуют о накоплении фосфатидилхолинов (ФХ), в том числе, дипальмитоилфосфатидилхолина (ДПФХ) сурфактанта в легких в результате воздействия блеомицина. В период раннего дистресс-синдрома имеют место еще и качественные изменения, в частности необычно высокий процент ДПФХ. В отдаленный период фиброзирование легочной ткани качественный состав нормализуется, но в легких по-прежнему много ФХ. Такие количественные и качественные изменения состава сурфактанта из легких, подвергнутых действию блеомицина, потенциально способны вызвать повышение его поверхностно-активных свойств. Проведенные эксперименты показывают, что при блеомицин - индуцированном фиброзе легких наблюдается повышенная активность и секреция ферментов, расщепляющих главный компонент сурфактанта, причем наибольшую активность, как внутриклеточную, так и секреторную, проявляют АМ. Активность ферментов подвержена характерным изменениям по мере развития фиброза. С наступлением периода активного формирования фиброзных изменений активность гидролаз, расщепляющих ДПФХ падает по сравнению с периодом воспалительной реакции.

Ключевые слова: сурфактант, дипальмитоилфосфатидилхолин, фосфолипаза

A.D. Tahanovich, O.A. Golovach

The changes of intra- and extracellular fond of phosphatidylcholines and enzymatic hydrolysis of dipalmitoylphosphatidylcholine during bleomycin-induced lung injury
The data obtained show the accumulation of phosphatidylcholines (PC), including, dipalmitoylphosphatidylcholine (DPPC) of lung surfactant as a result of bleomycin administration. At a period of early distress-syndrome the qualitative changes also exist, in particular, unusual high percent of DPPC. At remote period of pulmonary tissue fibrosis, a qualitative composition is normalized, but there are a lot of PC in lungs. Such quantitative and qualitative changes of the lung surfactant composition , subjected to bleomycin action , potentially capable to cause the increase of its surface-active tension . Our experiments show, that during bleomycin-induced pulmonary fibrosis we could found the increase of the activity and secretion of enzymes, splitting DPPC. The enzymatic activity had a typical changes during the fibrosis development. At the period of the active fibrogenesis the activity of hydrolases, splitting DPPC falls in contrast with the period of the inflammatory reaction.

Key words: surfactant, dipalmitoylphosphatidylcholine, phospholipase

Практически все экспериментальные модели острого повреждения легких, независимо от этиологии, вызывают у животных нарушение дыхательной функции (дистресс-синдром) в сочетании с воспалением легочной ткани. Хорошо известной и устоявшейся моделью повреждения легких является внутритрахеальное введение крысам противоопухолевого антибиотика - блеомицина. Сначала (4 – 7 сут после введения) развивается воспалительная реакция, вслед за которой идет фиброзирование легочной ткани (7 – 28 сут). В более поздний период, как сообщается, патологический процесс может постепенно саморазрешаться [9].

Одним из важных патогенетических звеньев фиброзирования также считается изменение метаболизма сурфактанта легких. В частности, сначала, на этапе острого воспаления отмечают гиперпродукцию этого вещества, а затем – истощение. Со снижением сурфактанта в альвеолах легких сопряжено и развитие в последующем дыхательной недостаточности. В качестве причины предполагается повышенный катаболизм сурфактанта, однако до настоящего времени эта гипотеза не получила экспериментального подтверждения [4].

Сурфактант легких – вещество гликолипопротеиновой природы, которое образуется альвеолярными эпителиальными клетками 2-го типа (А-2). Сурфактантные липиды формируют на поверхности раздела «воздух-жидкость» монослой, снижая поверхностное натяжение жидкости, выстилающей стенки альвеол легких. В результате альвеолы не спадаются при дыхании. По весу до 90% сурфактанта составляют липиды. Состав липидов у различных животных отличается, однако всегда основным фосфолипидным компонентом являются фосфатидилхолины (ФХ; 70 – 80%). Главным компонентом сурфактанта, ответственным за снижение поверхностного натяжения, выступает дипальмитоилфосфатидилхолин (ДПФХ). Он составляет до 50% всех ФХ сурфактанта легких.

На поверхности альвеол сурфактант все время обновляется. «Отработанный» сурфактант поступает в А-2, где подвергается расщеплению и (или) реутилизации. Другим не менее важным центром катаболизма сурфактанта служат альвеолярные макрофаги (АМ) [10]. Разрушение ФХ сурфактанта происходит с участием фосфолипаз группы А, действие которых направлено на расщепление ДПФХ [13, 15]. Выделяют цитозольные и секреторные формы фосфолипаз А. Однако о роли этих ферментов при формировании фиброза данных в литературе практически нет. Остается непонятным, какие изменения метаболизма сурфактанта ответственны за его последующую дисфункцию при остром повреждении легких. Нет единого мнения и о том, какие сдвиги в составе сурфактанта ответственны за это. Поэтому целью нашего исследования было выяснение особенностей перераспределения фонда ФХ, и в их числе, динасыщенных фосфатидилхолинов (ДНФХ), а также - расщепления ДПФХ фосфолипазами группы А, которые продуцировали АМ и А-2 из легких крыс при повреждении легких блеомицином.

Материалы и методы

Повреждение легких блеомицином. В эксперименте использовали 20 крыс массой 120 – 140 г. У животных, после предварительной анестезии внутримышечной инъекцией этаминала натрия в дозе 4 мг на 100 г массы тела, обнажали участок трахеи, в полость которой однократно вводили 0.1 мл препарата блеомицина в концентрации 100 мкг/мл. Контрольную группу составили животные, которым при всех тех же условиях вводили эквивалентный объем 0.9% раствора NaCl. Животных умерщвляли через 7, 21 и 28 сут после введения блеомицина, проводя предварительную анестезию.

Выделение и культивирование клеток легких. Из бронхоальвеолярной лаважной жидкости (БАЛЖ) выделяли АМ. Для этого клетки осаждали путем центрифугирования (900 об/мин, 10 мин, +5 °С). Из легких крыс, после обработки их эластазой и ДНК-азой, выделяли А-2 по методу Dobbs L. G. с соавт [2]. Клетки суспендировали в культуральной среде ДМЕ (Sigma, США), содержащей 10% эмбриональной сыворотки телят, 2 мМ глутамин (Sigma, США), гентамицин (Борисов, РБ). 2 мл суспензии, содержащей $3 \cdot 10^6$ клеток, пенициллин, 0.05 мМ фенилметилсульфонил флуорид (PMSF, ингибитор протеолиза) (Sigma, США)

вносили в пластиковые чашки Петри (Falcon, США), диаметром 3.5 см. Все манипуляции с клеточными культурами проводили в стерильных условиях. Жизнеспособность определяли тестом с трипановым синим, она составила $96 \pm 0,54\%$. Анализ ФХ. Экстракцию липидов из клеточного гомогената и БАЛЖ (для этого БАЛЖ предварительно концентрировали с использованием силикагеля при +40С) проводили по методу Folch J. с соавторами [3]. Хлороформный слой отделяли, упаривали и анализировали с помощью тонкослойной хроматографии (ТСХ) на силикагеле в системе растворителей хлороформ:метанол:вода (65:25:4). Разделенные фосфолипиды окрашивали в парах йода. Пятно, соответствующее ФХ, обрабатывали тетраоксидом осмия [11]. Через 15 мин пластинку поворачивали на 90° и проводили хроматографию в системе хлороформ:метанол:аммиак (65:35:4). Фракции, соответствующие ФХ и ДНФХ, соскребали. Минерализацию образцов проводили HClO₄ при 250 °С в течение 20 мин и определяли содержание липидного фосфора с помощью молибдатного реагента [20]. В качестве контроля использовали силикагель из зон хроматограмм, не содержащих фосфолипидов. Спектрофотометрические измерения осуществляли на СФ-46 (Санкт-Петербург, Россия).

Определение фосфолипазной активности. Субстратом ферментов гидролиза ДПФХ служили многослойные липосомы, для приготовления которых использовали хлороформный раствор липидного экстракта легких свиньи (100 мкл) и 160 нг (0.025 μCi) L-?-фосфатидилхолин ди[1-14C]пальмитоил или L-3 фосфатидилхолин 1-пальмитоил, 2-[14C] пальмитоила (Amersham, Великобритания). Для определения фосфолипазной активности к липосомам добавляли клеточный гомогенат или среду, в которой культивировались АМ и А-2. Смесь инкубировали при 37 °С в течение 30 мин. Реакцию останавливали внесением смеси хлороформ-метанол (1:2). Экстракцию липидов проводили по E. G. Bligh и W. J. Dyer [1]. Продукты гидролиза ДПФХ анализировали с помощью тонкослойной хроматографии [15]. Радиоактивность ДПФХ и ЛФХ определяли с помощью жидкостного сцинтилляционного ?-счетчика. Об активности ферментов гидролиза ДПФХ судили, высчитывая массу (нг /106 клеток) расщепленного радиоактивного субстрата.

Все результаты обработаны общепринятыми методами вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента и коэффициента корреляции Пирсона.

Результаты

Изменение концентрации ФХ и ДНФХ. В период с 7 по 28 сут после введения блеомицина содержание ФХ в БАЛЖ неуклонно нарастало (табл. 4). Все это время оно существенно превышало контрольный уровень, в наибольшей степени, через 28 сут, почти в 2 раза. Аналогичная динамика наблюдалась для содержания ДНФХ в БАЛЖ (табл. 5). Однако доля ДНФХ в составе ФХ у опытных животных снижалась. Через 28 сут она снизилась на 17% по сравнению с периодом через 7 сут после введения блеомицина. В БАЛЖ контрольной группы животных за такой же период времени колебания относительного количества ДНФХ в составе ФХ было несущественным (от 59% до 64%).

Аналогично БАЛЖ концентрация ФХ в А-2 также постепенно повышалась в период с 7 по 28 сут после введения крысам блеомицина. Через 21 и 28 сут она была значительно больше контрольной (более чем в 2 раза). Синхронно изменялась концентрация ДНФХ. Поэтому доля этих липидов в составе ФХ все время была одной и той же – 63%. Характерно, что абсолютно такой же процент ДНФХ сохранялся весь период наблюдения и в А-2 контрольной группы животных.

В АМ концентрация ФХ через 7 сут после введения крысам блеомицина снизилась по сравнению с контролем. Но в последующий период она повысилась и через 21 сут уже не отличалась от нормы. Такими же были цифры через 28 сут после введения блеомицина. Подобно тому, как это было в А-2 при повреждении легких блеомицином, отмечена синхронная с ФХ динамика изменений концентрации ДНФХ в АМ. Это обусловило постоянство доли ДНФХ в составе ФХ. Она не отличалась от контрольной в течение всего изучаемого периода и составляла 63%.

Распределение и динамика фосфолипазной активности. Фосфолипазная активность по расщеплению ДПФХ обнаруживалась как внутри АМ, так и в среде их инкубации (табл. 3). В среде, однако, активность была значительно ниже, чем внутри клеток. При использовании в качестве субстратов фосфатидилхолин ди[1-¹⁴C]пальмитоила и L-3 фосфатидилхолин 1-пальмитоил, 2-[¹⁴C] пальмитоила фосфолипазная активность, продуцируемая АМ, практически не отличалась (табл.2), что убедительно демонстрирует ведущую роль фосфолипаз А₂ в этом процессе.

На всех этапах развития пневмофиброза активность ферментов гидролиза ДПФХ существенно превышала контрольные значения. В АМ расщепление ДПФХ было максимальным через 7 сут после введения блеомицина (табл. 3). Тогда рост ферментативной активности достиг 165% по сравнению с контролем. Через 3 и 4 недели после введения блеомицина активность внутриклеточных фосфолипаз группы А сохранялась повышенной по сравнению с контрольной группой, хотя и в меньшей степени – на 59 и 60%, соответственно.

Через 7 суток после введения блеомицина отмечалась и максимальная секреторная активность АМ. Интенсивность расщепления ДПФХ, измеренная в среде культивирования этих клеток составила 22%. Через 21 сут она по-прежнему превышала контрольный уровень, на 20%. Через 28 сут после введения блеомицина секреторная активность АМ снижалась практически до контрольных значений.

Внутриклеточная интенсивность расщепления ДПФХ в АМ практически вдвое превышала таковую в А-2. Ферментативное расщепление ДПФХ альвеолоцитами II типа через 7 суток после введения блеомицина выросло на 58%. Через 21 сут, в отличие от АМ, способность к расщеплению еще больше возросла, на 90% по сравнению с контрольной группой, и сохранялась на повышенном уровне через 28 сут – на 67% (табл. 3).

Обсуждение

Известно, что около половины ФХ сурфактанта легких составляет дипальмитоилфосфатидилхолин [17]. Именно он ответственен за снижение поверхностного натяжения на поверхности альвеол. Согласно нашим данным, также больше половины общего количества ФХ в составе БАЛЖ контрольных животных приходится на ДНФХ. Это указывает на сурфактантную природу определяемых липидов. Удивительно, но абсолютно такой же процент ДНФХ определялся в составе ФХ альвеолоцитов 2-го типа и АМ. Если в клетках повреждение легких блеомицином не нарушало этого соотношения, то в составе БАЛЖ имелись характерные сдвиги. Через 7 сут после введения блеомицина доля ДНФХ составила 75%. В дальнейшем происходило снижение до 58%, через 28 сут. Относительное «обеднение» сурфактант-содержащего материала ДНФХ было обусловлено тем обстоятельством, что концентрация ФХ в БАЛЖ неуклонно росла, а уровень ДНФХ не изменялся. При этом весь изучаемый период и концентрация ДНФХ, и ФХ существенно превышали контрольные значения.

Повреждение легких после введения блеомицина имеет характерную морфологическую и функциональную динамику. До 4 сут отмечается острая воспалительная реакция. На смену ей наступает период, соответствующий раннему ОРДС (4-16 сут после введения блеомицина), за которым следует поздняя фиброзная фаза [18]. Надо отметить, что данные литературы относительно синтеза, содержания и состава липидов сурфактанта после повреждения легких экспериментальных животных блеомицином, хотя и многочисленны, но весьма противоречивы.

Некоторые исследователи отметили увеличение содержания фосфолипидов, в том числе, ФХ и ДНФХ, через 7 сут после введения препарата, 14 и 30 сут [18, 22]. Другие или не обнаружили изменений этих фосфолипидов [8, 23], или наблюдали их значительное снижение через 7 и 14 сут [20], через 10 сут с последующей (30 сут) нормализацией показателей [14]. Полученные нами данные свидетельствуют о накоплении ФХ, в том числе, ДНФХ сурфактанта в легких в результате воздействия блеомицина. В период раннего дистресс-синдрома имеют место еще и качественные изменения, в частности необычно высокий процент ДНФХ. В отдаленный период фиброобразования легочной ткани качественный состав нормализуется, но в легких по-прежнему много фосфатидилхолинов. Такие количественные и качественные изменения состава сурфактанта из легких, подвергнутых действию блеомицина, потенциально способны вызвать описанное в литературе повышение его поверхностно-активных свойств [7, 8, 14, 18, 22].

С другой стороны, мы наблюдали сильную корреляционную связь между изменением ФХ в БАЛЖ и клетках, контактирующих с сурфактантом и метаболизирующих его в легких, подвергнутых действию блеомицина. Для ФХ в БАЛЖ и А-2 коэффициент корреляции составил +0,97, в БАЛЖ и АМ — +0,79, в АМ и А-2 — +0,91. Для ДНФХ в БАЛЖ и А-2 он составил +0,58, в БАЛЖ и АМ — +0,86, в АМ и А-2 — +0,92. Такая взаимосвязь не удивительна, так как хорошо известно, что А-2 являются центром синтеза и реутилизации сурфактанта легких, в то время как АМ принимают активное участие в разрушении «отработанного» и «избыточного» сурфактанта [5, 15].

В литературе отсутствовали сведения об оценке содержания ФХ и ДНФХ в этих клетках при остром повреждении легких под влиянием блеомицина. Полученные нами результаты показали, что в А-2 после введения блеомицина концентрация тех и других, подобно тому, как это было в БАЛЖ, неуклонно растет. В АМ сначала, через 7 сут, содержание ФХ снижается. В последующий период активного фиброобразования в легких оно увеличивается до контрольного.

Мы усматриваем взаимосвязь между изменением ФХ и обнаруженным увеличением активности фосфолипаз группы А в АМ в динамике развития блеомицин-индуцированного повреждения легких. Если исходить из того, что главный путь катаболизма ФХ сурфактанта в АМ реализуется через деацилирование под влиянием фосфолипазы А₂ [12], то самому высокому подъему внутриклеточной активности этого фермента через 7 сут после введения блеомицина соответствует сниженная по сравнению с контролем концентрация ФХ и ДНФХ. В дальнейшем, на позднем этапе фиброобразования активность фосфолипаз группы А снижается, но остается выше нормы, что свидетельствует о сохраняющейся высокой скорости катаболизма сурфактантных фосфолипидов. Это не удивительно, поскольку в альвеолах легких имеется их избыток, а в АМ их концентрация уже не отличается от контроля.

Косвенно это подтверждают результаты исследования Swendsen C. L. с соавт. [21], согласно которым в период с 3 по 120 сут после внутритрахеального введения крысам

блеомицина в БАЛЖ регистрировалось высокая концентрация ненасыщенных жирных кислот. По мнению Miles P. R. с соавт. [12] источником их являются продукты деградации сурфактанта из АМ.

Можно предполагать два вероятных механизма, посредством которых наблюдаемое нарастание ФХ и ДНФХ в А-2 происходит, практически, параллельно БАЛЖ. Одним из них может быть усиленный синтез и секреция сурфактанта клетками 2-го типа. Подтверждением могут служить данные, согласно которым с 3 по 28 сут после введения блеомицина в легких наблюдалась пролиферация и гиперплазия А-2 [16, 19]. Другим вероятным механизмом является усиленное поступление сурфактанта из альвеолярного пространства, где он содержится в избытке, в А-2 для реутилизации. Однако оба механизма направлены на усиленную продукцию сурфактанта и тогда свидетельствуют о гиперфункции этих клеток.

Полученные нами данные показали, что в норме фосфолипазную активность по расщеплению основного компонента сурфактанта легких – ДПФХ проявляют и АМ, и А-2. В АМ она была значительно выше, что соответствует данным, полученным другими исследователями. АМ не только содержат внутриклеточные ферменты, но и секретируют их во внеклеточное пространство. В среде культивирования АМ также определялось расщепление ДПФХ, активность которого была, однако, существенно ниже, чем внутри клеток. Это согласуется с данными, полученными другими исследователями о секреции фосфолипаз АМ в альвеолярное пространство [13].

Таблица 1

Изменение количества АМ в БАЛЖ крыс в различные сроки после внутритрахеального введения блеомицина (n = 3)

	Контрольная группа	7-е сут	21-е сут	28-е сут
Количество АМ	$6.5 \pm 0.52 \cdot 10^6$	$10.7 \pm 0.34 \cdot 10^6^*$	$9.0 \pm 0.41 \cdot 10^6^*$	$8.5 \pm 0.44^*$

*-P <0.05 по сравнению с контрольной группой.

Таблица 2.

Продуцируемая АМ активность фосфолипаз группы А

Источник фосфолипазной активности	Используемый субстрат, % гидролиза	
	фосфатидилхолин ди[1- ¹⁴ C]пальмитоила	L-3 фосфатидилхолин 1-пальмитоил, 2-[¹⁴ C] пальмитоила
АМ, 20 ч (300 тыс клеток)	$17.97 \pm 0,075$	$17,48 \pm 0,6$
Среда, 20 ч (3 млн клеток)	$17,795 \pm 0,055$	$17,73 \pm 0,23$

Примечание: каждое значение – результат 3 независимых экспериментов, проведенных с контрольными животными.

Таблица 3.

Количество L-?-фосфатидилхолин ди[1-C14]пальмитоила, расщепленного фосфолипазами А из АМ и А-2 в динамике развития пневмофиброза

Объект для измерения фосфолипидной активности	Время после введения блеомицина (опыт) или NaCl (контроль)					
	контроль, 7-е сут	опыт, 7-е сут	контроль, 21-е сут	опыт, 21-е сут	контроль, 28-е сут	опыт, 28-е сут
	нг/10 ⁶ клеток (M ± m)					
АМ, клетки	79±0.19	210±0.12*	79±0.18	126±0.25*†	80±0.17	128±0.13*
АМ, среда	10±0.04	12±0.59*	8 0.19	10±0.05*	9±0.17	10±0.09
А-2, клетки	38±0.13	60±0.09*	37±0.16	70±0.13*†	39±0.08	65±0.14*†

* – P < 0,05 по сравнению с соответствующим контролем.

† – P < 0,05 по сравнению с предыдущим периодом в опытной группе.

Таблица 4.

Внутри- и внеклеточная концентрация ФХ в легких после введения блеомицина

Группа животных	Время после введения блеомицина		
	7 сут	21 сут	28 сут
Бронхоальвеолярная лаважная жидкость (мкг липидного фосфора/крысу)			
Контроль	20.0 ± 0.31	21.3 ± 0.44	18.4 ± 0.53
Опыт	25.3 ± 0.74*	27.6 ± 0.61*	33.6 ± 0.72*
Альвеолярные эпителиальные клетки 2-го типа (мкг липидного фосфора/10 ⁶ клеток)			
Контроль	3.50 ± 0.42	3.42 ± 0.14	3.97 ± 0.23
Опыт	4.00 ± 0.38	6.20 ± 0.61*	8.40 ± 0.84*
Альвеолярные макрофаги (мкг липидного фосфора/10 ⁶ клеток)			
Контроль	2.15 ± 0.35	2.68 ± 0.14	2.72 ± 0.32
Опыт	1.40 ± 0.62*	2.40 ± 0.51	2.55 ± 0.48

Примечание: каждое значение в таблицах 1 и 2 – результат 3 независимых экспериментов; * - обозначает статистически достоверную разницу (P<0.05) по сравнению с контролем.

Таблица 5.

Внутри- и внеклеточная концентрация ДНФХ в легких после введения блеомицина

Группа животных	Время после введения блеомицина		
	7 сут	21 сут	28 сут
Бронхоальвеолярная лаважная жидкость (мкг липидного фосфора/крысу)			
Контроль	12.0 ± 0.42	12.5 ± 0.74	11.8 ± 0.62
% от ФХ	60	59	64
Опыт	18.97 ± 0.63*	19.7 ± 0.24*	19.4 ± 0.31*
% от ФХ	75	71	58
Альвеолярные эпителиальные клетки 2-го типа (мкг липидного фосфора/10 ⁶ клеток)			
Контроль	2.21 ± 0.36	2.16 ± 0.25	2.5 ± 0.11
% от ФХ	63	63	63
Опыт	2.52 ± 0.77	3.9 ± 0.06	5.29 ± 0.92*
% от ФХ	63	63	63
Альвеолярные макрофаги (мкг липидного фосфора/10 ⁶ клеток)			
Контроль	1.35 ± 0.45	1.68 ± 0.84	1.72 ± 0.36
% от ФХ	63	63	63
Опыт	0.88 ± 0.25	1.51 ± 0.12	1.60 ± 0.65
% от ФХ	63	63	63

Действие фосфолипаз группы А, как известно, направлено на отщепление остатка жирной кислоты от молекулы фосфатидилхолина. Отщепление ацила от 1-го углеродного атома остатка спирта - глицерола катализирует фосфолипаза А1, - от 2-го углеродного атома глицерола – фосфолипаза А2. Эксперименты с различной локализацией радиоактивной метки (пальмитоил у 2-го углеродного атома глицерола и пальмитоил у 1-го и 2-го углеродных атомов глицерола) показали, что скорость расщепления ДПФХ, практически, от неё не зависит. Это позволяет прийти к заключению, что в АМ среди экспрессируемых фосфолипаз, как в норме, так и в патологии преобладают фосфолипазы А2. Другие исследователи также отмечают ведущую роль фосфолипазы А2 среди других фосфолипаз группы А, в клетках легких [12].

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о резком подъеме внутриклеточной способности АМ к расщеплению ДПФХ в период острого воспаления легочной ткани. Одновременно растет секреция этими клетками ферментов расщепления ДПФХ в альвеолярном пространстве.

Если принять во внимание наибольшее увеличение в этот же период количества АМ (табл. 1), можно прийти к заключению об индуцированном повышении ферментативного расщепления липидного компонента сурфактанта легких. Одним из аргументов в пользу сделанного предположения служит и обнаруженный ферментативный гидролиз ДПФХ альвеолоцитами II типа. Смена острого воспаления фиброзированием легочной ткани сопровождается снижением интенсивности внутри- и внеклеточного расщепления ДПФХ альвеолярными макрофагами. На этапе сформировавшегося фиброза секреторная фосфолипазная активность уже практически не отличалась от контрольных значений, внутри АМ она, по-прежнему, была выше нормы.

Таким образом, полученные данные позволили установить, что в период формирования экспериментального пневмофиброза клетки легких, прежде всего АМ, обеспечивают усиленное внутри- и внеклеточное расщепление ДПФХ. С одной стороны, оно создает базу для увеличенного ресинтеза сурфактанта (в А-2), но в большей степени оно создает предпосылки для уменьшения количества сурфактанта в альвеолярном пространстве. Но данные о распределении пула ДНФХ в клетках легких после повреждения легких блеомицином позволяют констатировать нарастающий подъем их концентрации в А-2, сначала на этапе раннего респираторного дистресс-синдрома, а затем сменяющего его этапа активного фиброзирования легочной ткани. Параллельно увеличивается уровень этих липидов в альвеолярном пространстве. Такой избыток «сурфактантных фосфолипидов», с одной стороны, может быть одной из причин повышенной фосфолипазной активности в АМ. С другой стороны, возможно, благодаря этому, он не приводит к существенному перераспределению ФХ и в их составе ДНФХ, в АМ. Выявленные закономерности изменений, в особенности, относительно фосфолипидов БАЛЖ, отличаются от имеющих место при синдроме дыхательной недостаточности другой этиологии, в частности, вызванной бактериальными липополисахаридами.

Литература

1. B l i h E.G., D y e r W.J. //Can. J. Biochem. Physiol. 1959 vol. 37. p. 91.
2. D o b b s L. G., G o u z a l e s R., W i l l i a m s M. //Am Rev. Respir. Dis. 1986. Vol.134. P. 141 – 145.
3. F o l c h J., L e e s M., S l o a n e S t a n l e y H. // J Biol Chem 1957, 226, 497

4. Grande N. R, Peao M. N., Sa C. M // Scanning Microscopy 1998. vol 12, N 3. P. 487 –494.
5. Gurel O., Ikegami M., Chronos Z., Jobe A. //Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol. 2001. Vol. 280. P. L1266 – L1272.
6. Hidi R., Vargaftig B., Touquill L. //The Journal of immunology 1993.vol.151. P. 5613–5623.
7. Horiuchi T., Ikegami M., Cherniack R. M., Mason R. J. //Am. J. Respir. Crit. Care Med. 1996. Vol.154. N 4 (Pt 1). P.1002 – 1005.
8. Horiuchi T., Mason R. J., Kuroki Y., Cherniack R. M. //Am. Rev. Respir. Dis. 1990. Vol.141. N 4 (Pt 1). P.1006 – 1013.
9. Jules –Elysee K., White D. A. // Clin. Chest Med. 1990. Vol.11, P.1 – 20.
10. King R. J., Clements J. A. //Handbook of Physiology. The respiratory system. Circulation and nonrespiratory function. Bethesda, MD:Amer. Physiol. Soc. 1985, Sect. 3., Vol.1, Chapt. 8. P. 309 – 336.
11. Mason R.J., Nellenbogen J., Clements J.A.//Journal of lipid research 1976. Vol. 17
12. Miles P. R., Ma J. Y., Bowman L. //J. Appl. Physiol. 1988. Vol. 64. N 6. P.2474 – 2481.
13. Nagase, Uozumi, N., Ishii //S. Nature Med. 2002 vol. 8, N 5.
14. Osanai K., Takahashi K., Sato S., Iwabuchi K. et al. //J. Appl. Physiol. 1991. Vol. 70. N 3. P.1300 – 1308.
15. Poelma D. L. H., Zimmerman L. J. I., Scholten H. H. et al. //Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2002. vol. 283. L640–L654.
16. Pozzi E., Salmona M., Masturzo P., Genghini M. et al. //Respiration. 1987. Vol. 51. Suppl. 1. P.23 – 32.
17. Quintero O.A., Wright J. R. //Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol. 2002. Vol. 282, N2. P. L330 – L339.
18. Schmidt R., Ruppert C, Markart P., Lubke N. et al. //Toxicol. Appl. Pharmacol. 2004. Vol.195. N2. P.218 – 231.
19. Song M., He B., Qui Z. //Zhoghua Jie He He Hu Xi Za Zhi. 1998. Vol.21. N 7. P.420 –422.
20. Stettner S., Ledwozyw A. //Acta Physiol.Hung. 1995. Vol. 83, N 2. P.181 – 187.
21. Swendsen C. L., Skita V., Thrall R. S. //Biochim. Biophys. Acta. 1996. Vol.1301. N1 – 2. P.90 – 96.
22. Thrall R. S., Swendsen C. L., Shannon T. H., Kennedy C. A. et al. //Am. Rev. Respir. Dis. 1987. Vol.136. N 1. P.113 – 118.
23. Viviano C. J., Bakewell W. E., Dixon D., Dethloff L. A., Hook G. E. //Biochim. Biophys. Acta. 1995. Vol. 1259. N 3. P.235 – 244.