

## ГЛАВА 1. АЛЬВЕОЛЯРНЫЙ ЭПИТЕЛИЙ И ЛЕГОЧНЫЙ СУРФАКТАНТ

Л.Н. Лепеха, М.В. Ерохина, Е.К. Тарасова

## CHAPTER 1. ALVEOLAR EPITHELIUM AND PULMONARY SURFACTANT

Larisa N. Lepekha, Maria V. Erokhina, Ekaterina K. Tarasova

Основная функция органов дыхания – эффективный газообмен между воздухом, поступающим в альвеолы и протекающей через легочные капилляры кровью. Для снабжения клеток и тканей кислородом ( $O_2$ ), необходимым для поддержания метаболических процессов организма на должном уровне, легкие пропускают большие объемы газа. Этот процесс обеспечивается огромной альвеолярной поверхностью, площадь которой у взрослого человека составляет 100–150 м<sup>2</sup> [1]. Каждая альвеола имеет тонкую стенку, которая не только противостоит давлению вдыхаемого объема воздуха и способствует интенсивному газообмену, но и обладает совершенной системой защиты от проникновения в респираторный отдел (РО) чужеродных веществ и бактерий, а также препятствует трансудации жидкости из капилляров во внутриальвеолярное пространство. Адекватному выполнению этих функций в значительной степени способствуют клеточный состав и структура альвеолярного эпителия (АЭ) в тесном взаимодействии с легочным сурфактантом (ЛС), принимающим непосредственное участие в биомеханике дыхания.

К настоящему времени накоплен большой фактический материал, раскрывающий особенности биохимии, внутриклеточной выработки и структурной организации ЛС в условиях действия неблагоприятных факторов внешней и внутренней среды, в т. ч. при развитии в РО легких воспалительного процесса [2]. В настоящее время при оценке структурно-функциональных изменений АЭ и ЛС востребованы и используются не только морфологические методы исследования на основе современной микроскопии высокого разрешения, но и молекулярно-генетические подходы. Чтобы сохранить естественное расположение внеклеточных мембран ЛС на поверхности альвеол, изучить их особенности и связь с клеточными элементами респираторного эпителия, были разработаны специальные методические приемы и способы обработки материала легких, ставшие основополагающими при исследовании экспериментального и клинического материала [3].

### Компоненты альвеолярной стенки

В легких взрослого человека насчитывается до 480 млн альвеол, их средний диаметр составляет

260–290 мкм [4]. Альвеолы отделены друг от друга межальвеолярными перегородками (стенками альвеол), которые имеют сложную многокомпонентную структуру (рис. 1).

Наружный клеточный слой, обращенный в просвет альвеолы, сформирован АЭ, расположенным на базальной мембране, которая отделяет клетки от интерстиция, пронизанного густой сетью кровеносных капилляров. В интерстиции также присутствуют резидентные макрофаги (гистиоциты), мигрирующие клетки крови, фибробласты, коллагеновые и эластические волокна. Эпителиальную выстилку альвеол покрывает внеклеточный слой жидкости (гипофаза), заполняющий все ее неровности и варьирующий по толщине в пределах 140–200 мкм [5]. Гипофаза содержит специальным образом упакованные мембраны резервного сурфактанта, тогда как на границе раздела фаз «воздух–жидкость» ло-

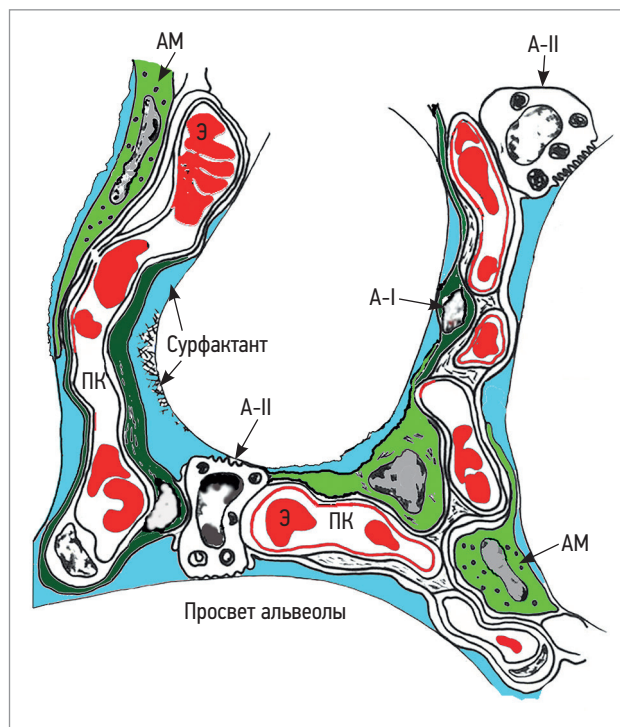


Рис. 1. Классическая схема строения альвеолярной стенки  
Примечание: А-I – альвеолоцит I типа; А-II – альвеолоцит II типа; АМ – альвеолярный макрофаг; Э – эритроцит; ПК – просвет капилляра.

кализуется монослой поверхностно активных фосфолипидов – собственно сурфактант.

В составе гипофазы, на поверхности АЭ, располагаются альвеолярные макрофаги (АМ), которые перемещаются в альвеолярном пространстве через поры Кона (рис. 1). Последние обеспечивают постоянный дрейф ЛС из зоны с высоким его содержанием в область с низкой его концентрацией. Этот механизм способствует выведению отработанных поверхностно-активных веществ (ПАВ) вместе с находящимися на поверхности гипофазы абиогенными частицами и микроорганизмами из РО. Подобное перетекание материала ЛС имеет важное физиологическое значение для обеспечения стабильного функционирования альвеол в пределах ацинуса [6].

### Альвеолярный эпителий

Как показала сканирующая и трансмиссионная электронная микроскопия, эпителиальная выстилка альвеол формирует непрерывный слой и у большинства млекопитающих, в т. ч. человека, содержит 2 типа клеток: 1) дыхательные альвеолоциты, или альвеолоциты I типа (А-I); 2) секреторные альвеолоциты, или альвеолоциты II типа (А-II). Кроме того, у некоторых лабораторных животных (крыс, собак) выявлены «щеточные» клетки, или альвеолоциты III типа (А-III). Доля А-I и А-II среди других клеточных элементов альвеолы составляет 8–10% и 16–18% соответственно [7, 8]. А-III встречаются в составе АЭ крайне редко и составляют не более 1% [9]. Следует подчеркнуть, что альвеолоциты всех типов имеют четкие морфологические и ультраструктурные отличия, что свидетельствует об их определенной функциональной специализации. А-I обеспечивают защитную, барьерную функцию респираторного эпителия и принимают непосредственное участие в легочном газообмене. А-II сохраняют способность к пролиферации и обеспечивают постоянство клеточного состава АЭ. В условиях необходимой физиологической регенерации и при развитии компенсаторно-восстановительных процессов в РО легких они не только поддерживают собственную популяцию, но и являются клеточным источником для других типов альвеолоцитов. Кроме того, А-II обладают секреторной активностью и обеспечивают внутриклеточную выработку всех основных компонентов ЛС. Малоизученные А-III относятся, скорее всего, к хеморецепторным клеткам респираторного эпителия, контролирующим нормальное физиологическое состояние гипофазы (кислотность, осмотичность и т. д.).

АЭ состоит из единого пласта клеток, которые соединяются посредством многочисленных межклеточных контактов разного типа: щелевых, адгезивных, плотных. Последние встречаются чаще всего, так как их структурные особенности в полной мере обеспечивают как избирательную проницаемость эпителиальной выстилки для отдельных молекул и ионов, так и определенную лабильность составляющих ее клеток в акте дыхания. Именно расположе-

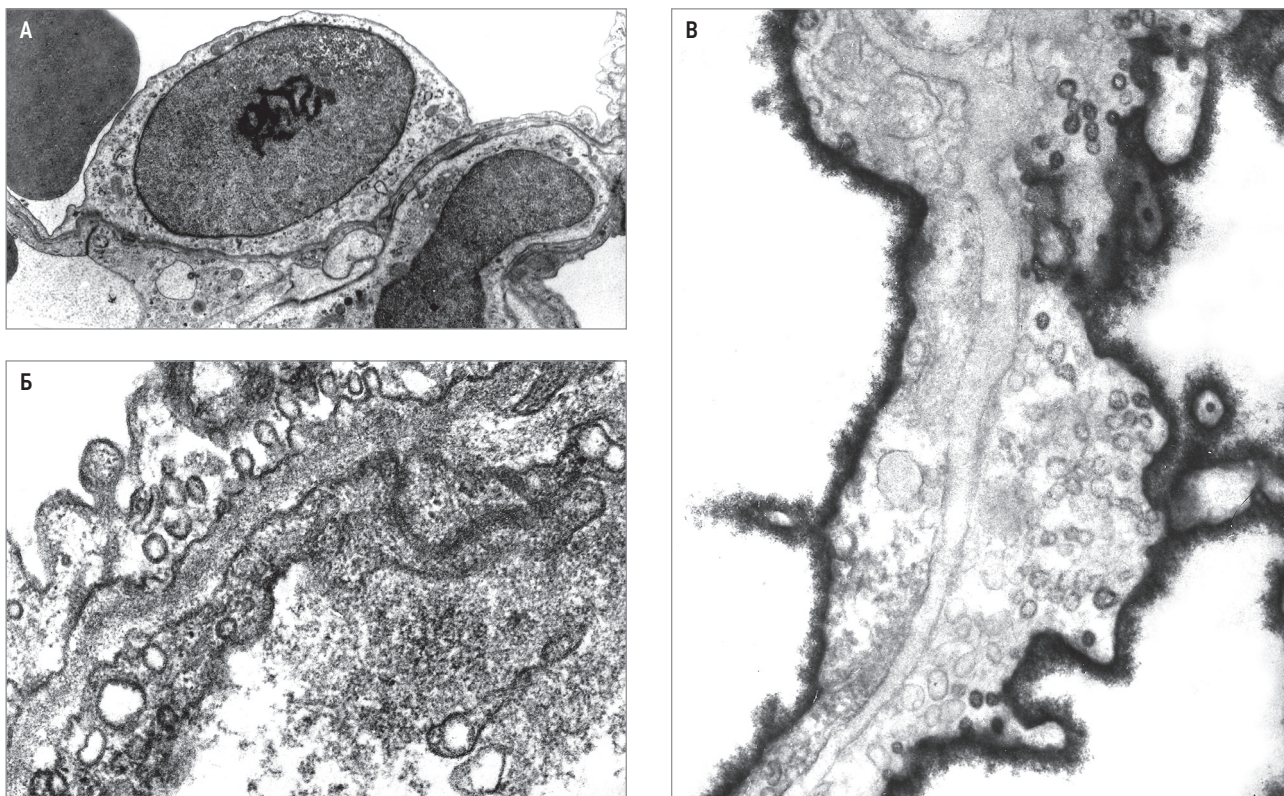
ние плотных контактов в апикальной части клеточного пласта альвеолы препятствует проникновению чужеродного материала из воздуха. Общим для А-I и А-II является присутствие в составе плотных контактов белков – клаудинов-3, -4 и -18, поддерживающих барьерную функцию эпителия [10]. Адгезивные контакты обеспечивают целостность и механическую прочность эпителиального пласта, участвуют в межклеточной передаче сигналов химической природы. Щелевые контакты принимают участие в передаче электрических импульсов и обеспечивают транспорт молекул с небольшой молекулярной массой, например кальция. Последний необходим для секреции ЛС клетками А-II [11,12].

### Альвеолоциты I типа

А-I – основные клеточные элементы эпителиальной выстилки альвеол, занимающие у взрослого человека не менее 90–95% ее площади [8]. Данные клетки имеют преимущественно гладкую поверхность; центральная часть цитоплазмы с ядром диаметром 4–6 мкм выступает в просвет альвеол и содержит небольшое число основных внутриклеточных органелл (рис. 2А).

От нее отходят тонкие цитоплазматические отростки длиной 10–25 мкм и толщиной 0,2–0,7 мкм, которые также лежат на базальной мембране. В их цитоплазме содержатся многочисленные микропиноцитозные везикулы, единичные митохондрии и каналы эндоплазматического ретикула.

Цитоплазматические отростки А-I вместе с аналогичными образованиями эндотелиальных клеток легочных капилляров формируют более тонкую часть альвеолярной стенки – воздушно-кровяной барьер. Его толщина варьируется в зависимости от наличия в интерстиции клеточных элементов и волокнистых структур соединительной ткани. В тех местах, где базальные мембраны альвеолярной и эндотелиальной выстилки сливаются в единую структуру (базальный слой), образуется самая тонкая, рабочая, часть барьера (рис. 2Б). Его толщина в легких здорового человека не превышает 1 мкм с учетом гипофазы и наружной мембраны ЛС [13]. Именно эти участки формируют необходимую диффузионную поверхность легких, которая составляет 50–100 м<sup>2</sup> [14]. Перенос газообразных и жидких компонентов через воздушно-кровяной барьер осуществляется с помощью микропиноцитозных везикул. Они определяются не только в цитоплазме клеточных элементов, но и непосредственно взаимодействуют с базальной и апикальной поверхностью альвеолоцитов и эндотелиоцитов. При введении в легочную артерию экспериментальным животным рутениевого красного, выявляющего гликокаликс этих клеток, гликозаминогликаны определяются и в составе пиноцитозных пузырьков (рис. 2В). Они формируют систему «транспортных везикул», которая функционирует в обоих направлениях. На апикальной плазматической мембране А-I идентифицирован белок



**Рис. 2.** Альвеолоциты I типа: А – общий вид;  $\times 15\ 000$ ; Б – тонкая часть воздушно-кровяного барьера с микропиноцитозными везикулами;  $\times 54\ 000$ ; В – гликозаминогликаны на поверхности (гликокаликс) и в составе везикул воздушно-кровяного барьера, окрашивание рутениевым красным;  $\times 28\ 000$ , трансмиссионная электронная микроскопия

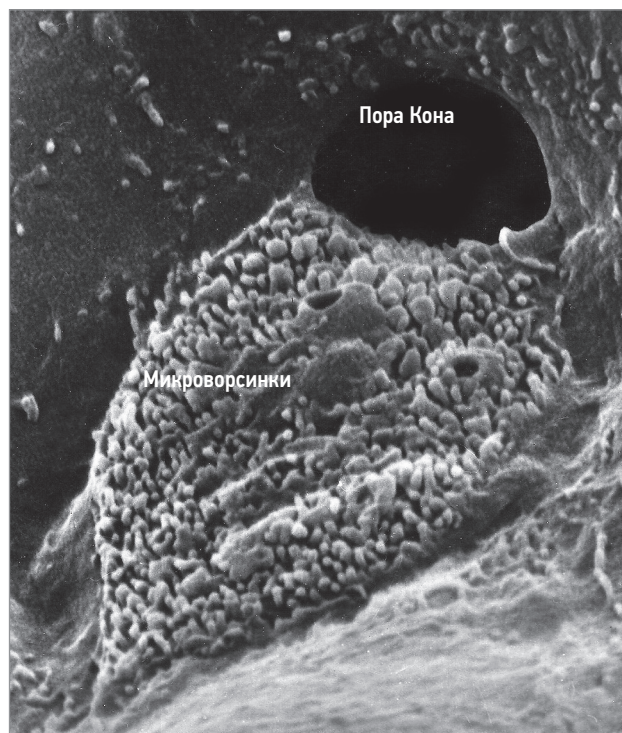
аквапорин-5, который ответственен за высокую осмотическую проницаемость молекул воды [15]. Примерно 60% транспорта жидкости в легких опосредовано через  $\alpha 2$ -субъединицу натрий-калиевой аденозинтрифосфатазы, которая экспрессирована именно в А-II [16].

Долгое время считалось, что А-I являются высокодифференцированными клетками, утратившими способность к делению. Исследования последних лет показали, что в условиях *in vitro* А-I могут демонстрировать определенную пролиферативную активность и, следовательно, участвовать в процессах репарации АЭ [17, 18]. Плазматическая мембрана А-I образует многочисленные инвагинации в виде кавеол, в состав которых входит белок кавеолин-1 [19]. Кавеолы играют значительную роль в обеспечении процессов эндоцитоза и трафика мембранных компонентов, в т. ч. при осуществлении клеточной репарации [20]. Кроме того, недавно установлена потенциальная иммуномодулирующая функция А-I и продукция ими провоспалительных цитокинов, таких как фактор некроза опухоли- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) и интерлейкины (IL) -6 и -1 $\beta$  после стимуляции клеток липополисахаридами [21, 22].

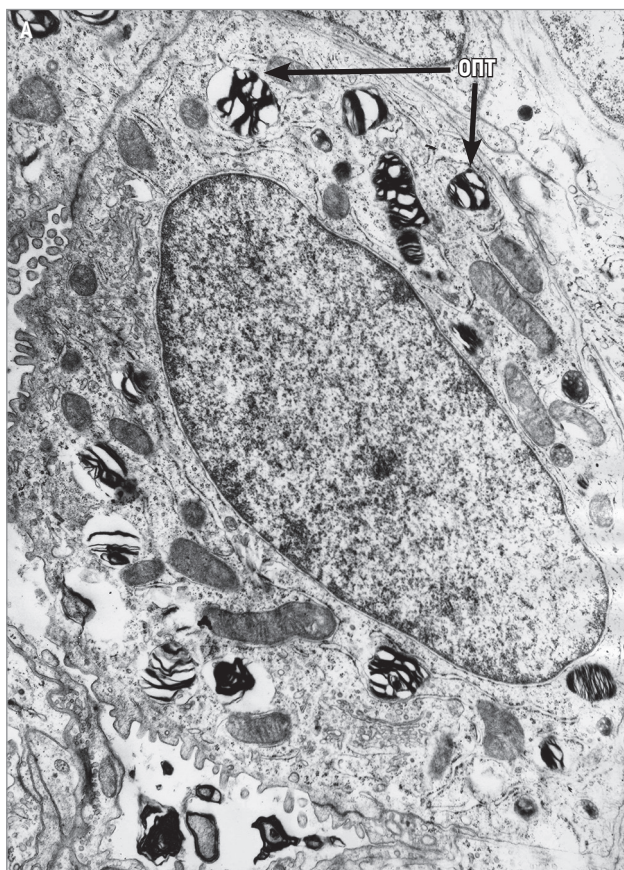
#### Альвеолоциты II типа

А-II покрывают не более 5% площади альвеолы и располагаются на базальной мембране преимущественно поодиночке, реже парами [8]. Часть клеток этого типа находится вблизи пор Кона или непосредственно в них (рис. 3).

А-II кубической формы, имеют на апикальной поверхности характерные микроворсинки длиной 20–30 нм, позволяющие идентифицировать эти клет-



**Рис. 3.** Альвеолоцит II типа с характерными микроворсинками на поверхности клетки, расположенной рядом с порой Кона;  $\times 7\ 000$ , сканирующая электронная микроскопия

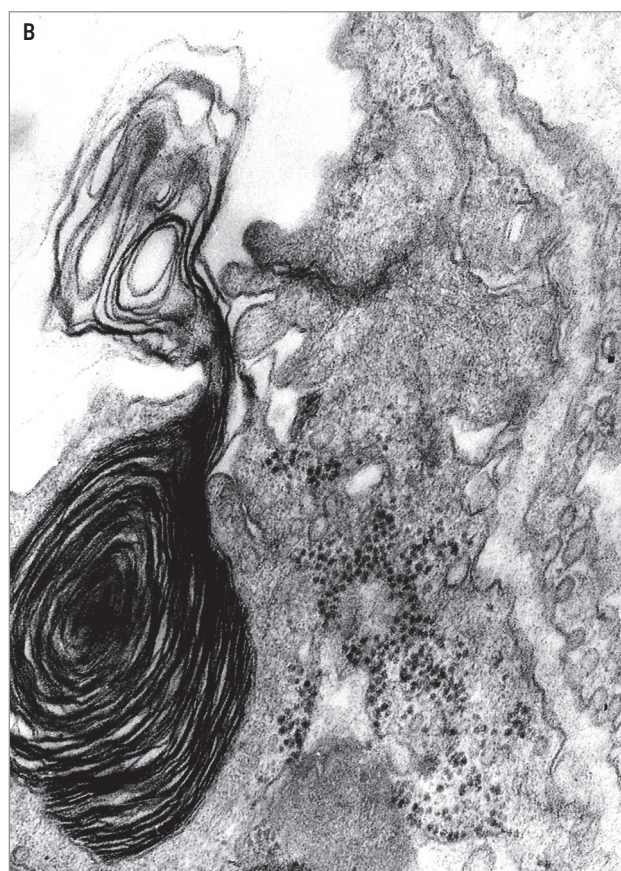


**Рис. 4.** Альвеолоциты II типа: А – общий вид клетки с осмиофильными пластинчатыми тельцами;  $\times 12\ 000$ ; Б – фрагмент цитоплазмы с осмиофильными пластинчатыми тельцами;  $\times 36\ 000$ ; В – выход содержимого ОПТ по мерокриновому типу;  $\times 48\ 000$ , трансмиссионная электронная микроскопия

Примечание: ОПТ – осмиофильные пластинчатые тельца.

ки при сканирующей электронной микроскопии. Ультраструктурная организация А-II типична для секреторной клетки (рис. 4А): хорошо развитые элементы гранулярного эндоплазматического ретикула, аппарата Гольджи, цитоскелета (микротрубочки и микрофиламенты) чередуются с митохондриями, рибосомами и полисомами, что указывает на высокую метаболическую активность клеток.

В цитоплазме А-II происходит формирование внутриклеточного ЛС за счет синтеза и накопления в секреторных гранулах – осмиофильных пластинчатых тельцах (ОПТ) необходимых их компонентов. Мультивезикулярные тельца являются органеллами, в которых осуществляется хранение структур-предшественников мембран сурфактанта до их окончательной сборки в ОПТ [23]. Последние ограничены одинарной мембраной и состоят из плотно упакованных осмиофильных пластин, расположенных с периодичностью 20–25 нм (рис. 4Б). При изучении топографических особенностей синтеза специфических белков ЛС было показано, что из канальцев гранулярной эндоплазматической сети они сначала попадают в аппарат Гольджи, где соединяются с углеводами, затем – в мультивезикулярные тельца и только после этого выявляются в составе ОПТ,



ультраструктурного маркера А-II. Следовательно, основные биохимические составляющие ЛС синтезируются независимо друг от друга, но накапливаются

в одной структуре — ОПТ, каждый в своем компартменте. Содержимое секреторных гранул выделяется в гипофазу по мерокриновому типу (рис. 4В), где формируются структуры резервного сурфактанта и его монослойная пленка на границе раздела фаз «воздух—жидкость». Известны примеры экзоцитоза внутриклеточного сурфактанта с базальной части А-II непосредственно в интерстиций альвеолярной стенки. Такой тип секреции ЛС можно наблюдать при аденокарциномах, что связано с инактивацией функции микротрубочек в раковых клетках. Изменение характера секреции и накопление ПАВ в интерстиции, очевидно, способствует активации элементов соединительной ткани и развитию фиброза.

Обновление ПАВ в органах дыхания происходит достаточно интенсивно, за 12–24 ч [13]. При этом сами А-II утилизируют большую часть «отработанных» мембран ЛС [24]. Реедсорбция липогликопротеидных комплексов осуществляется путем эндоцитоза, в механизме которого активная роль принадлежит белку SP-A. Он взаимодействует со специфическими рецепторами А-II и, очевидно, регулирует размеры внутриальвеолярного пула ПАВ, выступая в роли аутокринного фактора. Постоянная рециклизация молекул ЛС обеспечивает наиболее экономичный, быстрый и стабильный путь воспроизводства его поверхностно-активных свойств.

А-II могут выступать в качестве специфичной мишени для некоторых респираторных вирусов, таких как коронавирусы и вирусы гриппа [25–27]. В ответ на вирусную инфекцию альвеолоциты секретируют цитокины, активирующие гистиоциты и рекрутирующие лейкоциты из микроциркуляторной сети. Показано присутствие на поверхности А-II *Toll*-подобных рецепторов, которые регулируют адаптивный иммунный ответ [28]. Важная сторона участия А-II в защитных реакциях врожденного иммунитета обеспечивается синтезом специфических белков сурфактанта SP-A и особенно SP-D, которые связываются с широким спектром микробов, вирусов и грибов, обеспечивая их дальнейшее распознавание клетками иммунной системы.

Гиперплазия А-II является общей характерной чертой при развитии различных интерстициальных легочных заболеваний. Так, одна из гипотез патогенеза идиопатического легочного фиброза (ИФЛ) предполагает, что фиброзирование альвеолярных стенок вызывается дисфункцией А-II, связанной со стресс-синдромом эндоплазматического ретикула. Последний также может быть опосредован мутацией генов белков SP-A и SP-C. Стресс-синдром эндоплазматического ретикула в А-II приводит к секреции трансформирующего фактора роста- $\beta$ , индуцирующего эпителиально-мезенхимный переход и развитие фиброза [29].

В настоящее время уже известно, что популяции клеток легких могут быть более разнообразными, чем считалось ранее, в т. ч. популяция А-II. Так, среди них была обнаружена субпопуляция, несущая

маркер TM4SF1 — трансмембранный белок 4 L6. Он участвует в передаче сигналов, регулирующих клеточный цикл. Предполагается, что такая субпопуляция А-II имеет способность к пролиферации и дифференцировке в А-I, когда это необходимо. При этом для данной субпопуляции характерна повышенная чувствительность к сигналам *Wnt*-каскада [30]. Дистальные отделы здоровых легких человека обогащены субпопуляцией А-II, имеющей маркер НТII-280<sup>+</sup>. Доля этих клеток у здоровых людей составляет от 70 до 90% и значительно снижается при патологических процессах [31].

### Представление об альвеолярном эпителии по данным транскриптомного анализа

Современные методы молекулярного анализа дополняют и обогащают полученные ранее данные о разнообразии клеточных типов, формирующих альвеолы. Использование методов, выявляющих транскриптом (совокупность всех транскрибированных клеткой молекул РНК), позволило утверждать, что функциональные типы клеток, относящиеся к АЭ (и ко всей стенке альвеолы в целом), более разнообразны, чем было описано ранее при проточной цитометрии, а также световой и электронной микроскопии.

Представленное в журнале *Nature* в 2020 г. одно-клеточное РНК-секвенирование популяции эпителиальных клеток в легких человека демонстрирует гетерогенность А-II по молекулярно-генетическим характеристикам [32]. По данным авторов, были определены следующие популяции клеток: эпителиальная (15 типов), иммунная (25 типов), эндотелиальная (9 типов) и стромальная (9 типов).

В альвеолярном эпителии были обнаружены 2 субпопуляции А-II. Один кластер (*WIF1*<sup>+</sup>*HHIP*<sup>+</sup>*CA2*<sup>+</sup>) экспрессировал высокий уровень канонических маркеров А-II (*SFTPA1*, *SFTPC* и *ETV5*) и селективно экспрессировал ингибиторы *Wnt* (*WIF1*) и *Hedgehog* (*HHIP*), а также клеточного цикла (*CDKN1A*), что свидетельствует о покое состоянии клеток.

Другой кластер, в 10 раз меньший по численности, получил название «сигнальные А-II». Он экспрессирует гены, вовлеченные в сигнальный путь *Wnt* (*WNT5A*, *LRP5*, *CTNNBIP* и *TCF7L2*) и обезвреживание токсинов (*CP*, *GSTA1* и *CYP4B1*). Предполагается, что «сигнальные А-II» могут быть и альвеолярными стволовыми клетками.

Были идентифицированы новые клетки стромы, наименее охарактеризованного компартмента альвеол. Два кластера экспрессировали классические маркеры фибробластов (*BSG* и *COL1A2*). Однако один из них (*SPINT2*<sup>+</sup>*FGFR4*<sup>+</sup>*GPC3*<sup>+</sup>) был обнаружен в альвеолах и получил название «альвеолярные фибробласты», а другой (*SFRP2*<sup>+</sup>*PI16*<sup>+</sup>*SERPINF1*<sup>+</sup>) — располагался в адвентиции сосудов и ближайших воздухоносных путей и получил название «адвентициальные фибробласты». Экспрессируемые ими гены вовлечены в каноничные функции фибро-

бластов (биосинтез матрикса, адгезия и регуляция сигналинга). Каждый кластер также имеет отдельную функцию: экспрессия потенциал-зависимых натриевых каналов *SCN7A* и рецептора глутамата *GRIA1* предполагает, что «альвеолярные фибробласты» являются возбудимыми, глутаматэргическими клетками. Их профили транскрипции также предполагают новые функции, включающие в себя рекрутинг иммунных клеток (*IL1RL1*, *IL32*, *CXCL2* и гены локуса главного комплекса гистосовместимости II) и системы комплемента (*C2*, *C3*, *C7*, *CFI*, *CFD*, *CFH* и *CFB*). Оба новых стромальных кластера обогащены *ACTA2*, каноничным маркером миофибробластов. Один кластер (*WIF1<sup>+</sup>FGF18<sup>+</sup>ASPN<sup>+</sup>*) соответствует классическим миофибробластам и располагается в альвеолах. Другой («фибромиоциты») показывает повышенную экспрессию генов сократимости (*MYH11*, *CNN1* и *TAGLN*). Эти клетки чаще выделялись из проксимальных участков легких [32].

В эпителиальном компартменте было идентифицировано множество популяций клеток-предшественников, которые могут реагировать на повреждение. Классически эти реакции подразделяются на регенерацию эпителия дыхательных путей (осуществляется базальными клетками и клетками Клара) и регенерацию альвеолярного эпителия (реализуется субпопуляциями А-II). Однако более 10 лет назад была идентифицирована небольшая популяция клеток в соединении бронхоальвеолярных протоков в легком мыши. Данная клеточная популяция – бронхоальвеолярные стволовые клетки (BASCs) – была отмечена совместной экспрессией канонического маркера клеток Клара *Scgb1a1* (также называемого *CC10*) и *Sftpc*, классического маркера А-II. Бесспорно, BASCs – редкая, но выделяющаяся популяция, которая существует в соединении бронхоальвеолярных протоков в легких мышей и может вносить вклад в регенерацию после повреждений как в воздухоносных путях, так и в альвеолах. При этом BASCs разным образом реагируют на повреждение дыхательных путей, альвеол и на вирус гриппа. В случае повреждений дыхательных путей BASCs вносят вклад в регенерацию, дифференцируясь в реснитчатые клетки и клетки Клара. При повреждении альвеол BASCs дают начало А-II. В случае же повреждений, вызванных вирусом гриппа, ответ с их участием представляет собой одновременное восстановление численности клеток как альвеол, так и воздухоносных путей [33].

### Легочный сурфактант

Активное изучение ЛС началось с 1950-х гг., когда был сделан важный вывод о необходимости присутствия ПАВ на поверхности альвеолы [34]. Проведенный химический анализ показал, что данные вещества представлены фосфолипидами (ФЛ), среди которых преобладает фосфатидилхолин (ФХ) [35]. Так была найдена основа, предсказанная еще в 1929 г. *K. Neergard*, которая наилучшим образом

объясняет стабильность альвеол при дыхании [36]. Существенным вкладом для оценки функционального состояния ЛС стали работы *J.A. Clements*, который впервые для измерения поверхностного натяжения (ПН) смывов из легких стал использовать весы Вильгельми, что позволило получить кривую зависимости величины ПН от площади поверхности альвеолы (т. н. петлю гистерезиса) [37, 38]. Способность ЛС адсорбироваться на границе раздела фаз и при этом понижать ПН связана с особым расположением молекул ФЛ, наличием в них гидрофильных и гидрофобных участков. Между монослоем и гипофазой поддерживается динамическое равновесие: при вдохе альвеолярная поверхность растягивается и увеличивается площадь монослоя, в который из гипофазы включается группа новых молекул ПАВ. Перед выдохом и началом сжатия монослоя, наоборот, часть молекул ПАВ возвращается из монослоя в гипофазу. Таким образом, на вдохе и на выдохе в мономолекулярной пленке ЛС находится разное количество ФЛ: данный механизм и лежит в основе формирования гистерезиса. Несмотря на то, что указанный способ изучения легочных ПАВ не прямой, полученные с его помощью данные коррелируют с результатами морфологического и биохимического исследований и позволяют прогнозировать риск спадения альвеол, т. е. развития легочных ателектазов.

Структурная организация ЛС у всех млекопитающих и человека имеет общий план строения. В его составе принято выделять наружную пленку – мембрану толщиной 8–10 нм, расположенную непосредственно на границе раздела фаз «воздух–жидкость» (собственно ЛС) и связанный с ней и погруженный в гипофазу резервный ЛС (тубулярный миелин – ТМ). Все вместе получило название «сурфактантный альвеолярный комплекс» (САК).

### Функции сурфактанта

Присутствие мембран ЛС на поверхности альвеол предохраняет их не только от ателектазов, но и от внутриальвеолярного отека. В норме онкотическое давление плазмы крови (37 см вод. ст.) складывается из онкотического давления тканевой жидкости (18 см вод. ст), гидродинамического давления крови (15 см вод. ст.) и давления, обусловленного ПН альвеол (4 см вод. ст.). При дефиците ЛС наблюдается резкое увеличение проницаемости воздушно-кровяного барьера, нарастает трансудация жидкости из кровеносных капилляров, происходит «затопление» альвеол [39].

Среди основных функций ЛС необходимо также выделить его участие в противоинфекционной защите альвеол, изучению которой в последние годы уделяется особое внимание. Анализируются такие важные аспекты этой проблемы, как:

- выявление элементов противоинфекционной защиты в составе структур внеклеточной выстилки альвеол;

- влияние ЛС на миграцию, созревание и функциональную активность АМ;
- участие легочных ПАВ в работе мукоцилиарного аппарата.

Следует отметить, что участвующие в биомеханике дыхания молекулы ЛС обладают и антиоксидантными свойствами: они защищают от активного  $O_2$  не только собственные структуры, но и клетки АЭ [40]. Важную роль при этом играют вырабатываемые А-П специфичные белки ЛС, которые активно изучаются в последние десятилетия.

### Биохимический состав сурфактанта

Биохимические исследования во многом прояснили роль структурных липогликопротеидов, формирующих упорядоченные мембраны ЛС и обеспечивающих его молекулярные и функциональные особенности в норме и при патологии [41, 42]. Знание молекулярных основ САК имеет важное прикладное значение, так как способствует созданию искусственных мембран и фармакологических препаратов сурфактанта. Основные представления о составе и структуре ЛС сформированы при изучении материала бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ), полученного от экспериментальных животных и человека. ЛС млекопитающих представлен комплексом липогликопротеидов, в котором 80–90% приходится на долю липидов: 80% – ФЛ, 5–10% – нейтральных липидов, главным образом холестерина. На белки приходится 8–10% (по некоторым данным, 5–6%), доля углеводов составляет 2–4% [2].

### Фосфолипиды сурфактанта

Основными веществами, составляющими «скелет» САК и способными изменять ПН альвеолы, являются ФЛ [43]. Их характерная особенность – высокая способность к самоорганизации в двухслойные мембраны в водной среде. Именно в виде таких структур ЛС хранится в ОПТ А-П. После выхода из клетки ФЛ формируют монослой, в котором гидрофильная часть молекулы («голова») обращена в гипофазу (жидкость), а гидрофобная («хвост») – в воздух. Чем выше концентрация ФЛ в монослое, тем ниже ПН и тем меньшая энергия необходима для расширения альвеолы при вдохе и для ее стабилизации при выдохе [44]. Среди ФЛ 70–80% составляет ФХ [45]. Больше половины ФХ представлено его насыщенной формой, имеющей 2 остатка пальмитиновой кислоты, – дипальмитоилфосфатидилхолином. Один конец его молекулы, содержащий холиновый остаток, является полярным, гидрофильным и связан с гипофазой; другой же, неполярный и гидрофобный, содержит остатки пальмитиновой кислоты, и направлен в воздух. По сравнению с другими жирными кислотами пальмитиновая кислота избирательно накапливается в А-П и включается в ФХ в составе ЛС, молекулы которого при сжатии монослоя оказываются плотно упакованными, обеспечивая тем самым его стабильность [46]. Присутствие

в составе САК ненасыщенной формы ФХ делает его мембраны более текучими, придает им определенные динамические свойства.

В биосинтезе и биогенезе ФХ существенная роль принадлежит таким ферментам, как холинкиназа и холинфосфатцитидилтрансфераза. Последняя существует в виде 2 изоформ и кодируется 2 различными генами. Нарушения в их синтезе приводят к ранней гибели плода, так как не происходит формирование полноценных внутриклеточных мембран ЛС [47]. Дипальмитоилфосфатидилхолин синтезируется двумя путями: 1) *de novo*; 2) в результате ресинтеза из лизофосфатидилхолина (лизоФХ). Механизм ресинтеза предполагает, что «отработанный» ЛС подвергается эндоцитозу в А-П и последующему расщеплению ФХ до лизоФХ. Ненасыщенные формы ФХ подвергаются деацилированию кальцийзависимой фосфолипазой А-П или пероксиредоксином-6 [48, 49]. Ферментом, ответственным за реацилирование, является лизофосфатидилхолинацилтрансфераза-1 [50].

Согласно нашим данным, процентное содержание других ФЛ в ЛС колеблется у разных видов лабораторных животных. Особенно это характерно для фосфатидилглицерола – 2-го по содержанию фосфолипидного компонента легочных ПАВ, который у некоторых видов млекопитающих (например, кроликов) выявляется только в постнатальный период жизни. ФЛ с низкой поверхностной активностью (сфингомиелин, фосфатидилэтанолламин, фосфатидилсерин, фосфатидилинозитол) присутствуют в составе ЛС в небольших концентрациях, что затрудняет изучение их функций. Например, предполагают, что сфингомиелин обеспечивает защиту ЛС от перекисного окисления липидов. Некоторые лизоФЛ являются неактивными предшественниками липидных медиаторов, в частности фактора активации тромбоцитов, оказывающих разнообразное действие на функции различных систем организма [51]. Необходимо специальное изучение и таких компонентов ЛС, как холестерин и триглицериды. Холестерин – важный компонент ЛС: присутствие достаточного числа его молекул в монослое сурфактанта уменьшает плотность упаковки ФЛ и увеличивает их подвижность [52, 53].

Таким образом, присутствие гетерогенной фракции ФЛ обеспечивает разную плотность упаковки, текучесть и динамические свойства мембран ЛС, от которых зависят снижение ПН и переход ФЛ в акте дыхания из монослоя в пул «резервного» сурфактанта (гипофазу) и обратно.

### Белки сурфактанта

По данным современных биохимических и молекулярных исследований, с ЛС постоянно связаны 3 специфичных белка – SP-A, SP-B, SP-C. Четвертый белок, SP-D, может быть только ассоциирован с мембранами ЛС [54, 55]. Благодаря биоинформационным технологиям были получены характеристики еще одного белка ЛС – SP-G [56].

Присутствие белков, особенно гидрофобных, абсолютно необходимо для надлежащей функциональной эффективности ЛС. Сочетание определенных липидов и белков было эволюционно оптимизировано в ЛС для реализации его свойств. Экспериментальные данные, собранные на сегодняшний день, предполагают, что белки облегчают адсорбцию и стабилизацию поверхностной пленки сурфактанта при расширении альвеол при вдохе. В то время как липиды, по существу, ответственны за максимальное снижение ПН при выдохе [57].

#### **Белки SP-B и SP-C**

SP-B (9–18 кДа) и SP-C (5 кДа) являются низкомолекулярными гидрофобными белками, составляют 1–2% от всех белков ЛС и в органических растворителях остаются связанными с ФЛ [42]. Гены, картируемые на хромосомах 2p12-p11.2 и 8p21 человека, кодируют белки SP-B и SP-C соответственно. SP-B синтезируется в А-П в виде водорастворимого крупного предшественника про-SP-B, содержащего 400 аминокислотных оснований (а. о.), который претерпевает дальнейшие преобразования в мультивезикулярных тельцах и в ОПТ до белка, состоящего из 79 а. о. [58]. В процессинге SP-B участвуют такие ферменты, как напсин А, катепсин Н, пепсиноген С [59]. Анализ аминокислотной последовательности SP-B позволяет отнести данный белок к семейству сапозин-подобных, что предполагает его возможное участие в реакциях врожденного иммунитета [60]. Белок SP-C также синтезируется в А-П и состоит из 35 а. о. Среди ферментов, которые участвуют в его созревании, известен только катепсин Н. Подобно SP-B, оно происходит в мультивезикулярных тельцах и ОПТ [61, 62].

Белок SP-C расположен в липидном монослое параллельно его поверхности вне зависимости от степени сжатия монослоя. Согласно современным экспериментальным исследованиям, белки SP-B и SP-C обеспечивают низкое ПН и высокую стабильность поверхностной пленки ЛС, участвуют в формировании ТМ. Показано, что инактивация экспрессии гена SP-B приводит к нарушению дыхательной функции и развитию ателектаза легких у новорожденных [63]. Поэтому эти низкомолекулярные белки входят в состав препаратов сурфактанта, необходимых для заместительной терапии при синдроме острых дыхательных расстройств. Вместе с тем выявлено, что для формирования в условиях *in vitro* мембран ЛС дополнительно необходим белок SP-A [64].

Для определения однозначных функций SP-C и SP-B была разработана модель нокаутных по SP-B мышей. У таких животных наблюдалась дыхательная недостаточность, несмотря на поступление экзогенного SP-B. Важно отметить, что процессинг предшественника SP-C не завершался, что приводило к дополнительному дефициту зрелого SP-C в альвеолярном пространстве [57].

Методом атомно-силовой микроскопии были точнее определены сайты локализации белков ЛС по отношению к его липидной части во время вдоха и выдоха — сокращения и сжатия липидного слоя. Было показано, что SP-B изначально располагается на поверхности границы раздела фаз и частично над фосфатными группами липидов. При сжатии SP-B самостоятельно перемещается ниже фосфатных групп, в область гидрофобных «хвостов» ФЛ. SP-C же пребывает в области гидрофобных «хвостов» ФЛ бислоя и не меняет своего положения вне зависимости от сжатия. Эти наблюдения позволяют предположить, что способность SP-B менять ПН связана с его локализацией [65].

Присутствие SP-B и SP-C в составе ЛС критически необходимо для расправления альвеол после выдоха, стабильности липидного бислоя и осуществления газообмена на поверхности раздела фаз.

#### **Белки SP-A и SP-D**

SP-A и SP-D являются высокомолекулярными (28–36 кДа и 43–45 кДа соответственно) гидрофильными белками. Оба входят в состав суперсемейства Са-зависимых лектинов (С-типа), которые связываются с полисахаридами, ФЛ и гликолипидами на поверхности различных микроорганизмов. Коллектины характеризуются 4 структурными доменами, которые присутствуют у всех членов данного семейства: домен лектина С-типа (CR-домен), «шея», триплет спиралевидного коллагенового домена и короткий аминоконцевой домен, богатый цистеином (рис. 5) [66, 67].

Имея сходную структуру отдельных мономеров, четвертичная структура белков SP-A и SP-D различается. У белка SP-A она состоит из 6 групп тримеров (18 мономеров), которые объединяются в виде «букета», тогда как SP-D содержит 4 группы тримеров (12 мономеров), соединенных между собой концевыми доменами в виде крестообразной структуры (рис. 5). Окончательная сборка тримеров в виде белков SP-A или SP-D происходит или в результате «переплетения» коллагеновых «хвостов» (SP-A), или в результате формирования дисульфидных связей между богатыми цистеином концевыми доменами (SP-D) [68]. Оба белка имеют не только разную четвертичную структуру, но и связываются с разными ФЛ, участвуют в биогенезе разных структур ЛС. Белок SP-A необходим для формирования ТМ. В условиях *in vitro* показано, что через белки SP-A может осуществляться агрегация мембран ЛС: «головы» белка связываются с мембранами, а «хвосты» взаимодействуют друг с другом, тем самым образуя «перемычки», которые соединяют отдельные мембранные комплексы друг с другом [69]. Белок SP-A локализуется в углах сеточек ТМ, участвуя в поддержании и сохранении его структуры при акте дыхания [70].

Белок SP-D не требуется для синтеза ЛС, его секреции и катаболизма, но необходим для реутилизации липогликопротеидных комплексов А-П [71].



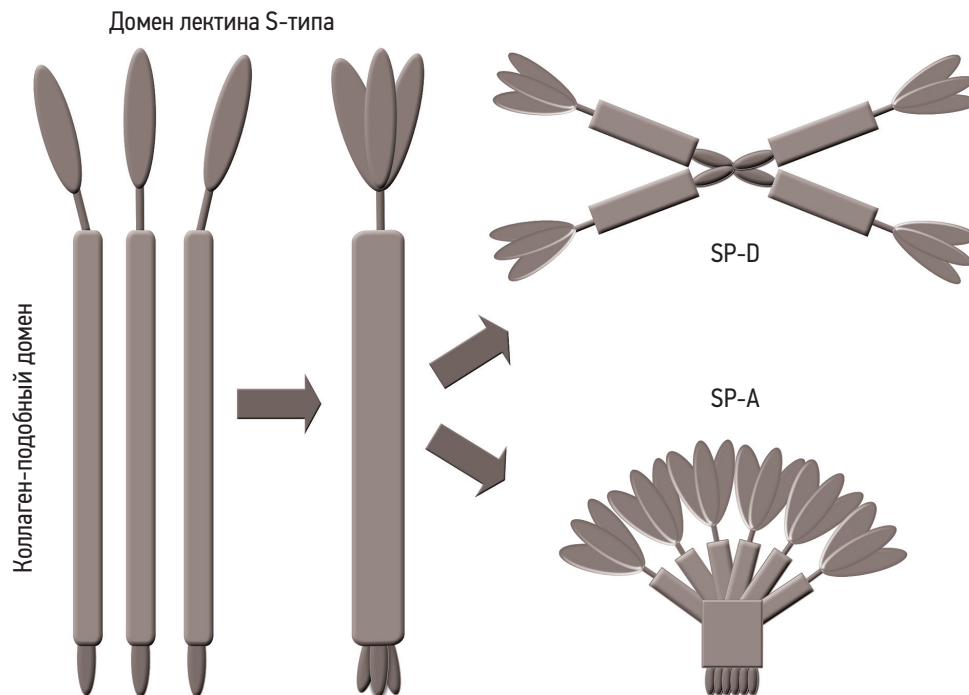


Рис. 5. Схема формирования структуры белков SP-A и SP-D

Большое внимание в последнее время уделяется участию этого белка в реакциях врожденного иммунитета. Установлено, что мыши с нокаутом по гену *Sftpd*<sup>-/-</sup> очень чувствительны к различным инфекционным возбудителям, включая бактерии, вирус гриппа и грибы (*Aspergillus fumigatus*), с которыми SP-D связывается через CR-домены [72, 73]. На эффективность взаимодействия влияет концентрация глюкозы: при ее повышении связывание нарушается, что может иметь значение для больных сахарным диабетом [74]. Существует мнение, что распространение вируса гриппа находится в прямой зависимости от способности SP-D взаимодействовать с конкретными циркулирующими штаммами [75, 76]. Штаммы гриппа, с которыми SP-D связывается в меньшей степени, например 1918 H1N1 и пандемичный 2009 г., демонстрируют большую вирулентность. Что касается бактерий, то SP-D взаимодействует с основными компонентами клеточной стенки грамположительных бактерий — пептидогликанами и липотейхоевой кислотой, а также с липосахаридами грамотрицательных шероховатых бактерий, стимулируя их агрегацию и поглощение фагоцитами [77]. При этом данный белок регулирует активность иммунных клеток путем активации различных сигнальных каскадов (*Toll*-подобные рецепторы, CD14, миозин 18a, NFκB и др). Возможно, этот белок принимает непосредственное участие в слиянии фагосом с лизосомами, стимулируя образование фаголизосом, в т. ч. в случае с *Mycobacterium tuberculosis* [78].

Установлено также, что SP-A повышает способность АМ поглощать материал ЛС и тем самым препятствует его избыточному накоплению в альвеолах. Более того, связанный с поверхностью АМ, данный

белок является фактором, обеспечивающим прикрепление к фагоциту ряда микроорганизмов, в частности *M. tuberculosis*. Недавно показано, что при взаимодействии с рецепторами макрофагов SP-D стимулирует образование активных форм O<sub>2</sub>, что повышает его микробицидный потенциал фагоцита. Этот же белок участвует в удалении апоптотических клеток, связываясь с апоптотическими тельцами и стимулируя их поглощение АМ через комплекс CD91 и белок кальретикулин [79].

#### Другие белки сурфактанта

В последние годы выявлена существенная роль мембранных белков-транспортеров, в частности ABCA3, в биогенезе ЛС и ОПТ. Многие из белков этого семейства действуют как флиппазы, осуществляя перемещение ФЛ из одного мембранного слоя в другой и используя энергию гидролиза аденозинтрифосфата (АТФ) [80].

Мутации гена белка ABCA3 приводят к дефектам накопления ФХ в мембранах ЛС и развитию респираторного дистресс-синдрома (РДС) у новорожденных [81]. Показано, что ABCA3 совместно с SP-B принимает непосредственное участие в формировании структуры секреторных гранул, их упаковке в виде концентрически расположенных мембран.

Метод геномного анализа позволил выявить возможность существования в составе САК еще одного сурфактантного белка, получившего название *surfactant-protein G* (SP-G), или *surfactant-associated protein 2* (SFTA 2). Было определено, что это белок с молекулярной массой 8 кДа, который состоит из 78 а. о. Экспрессирующий его ген может располагаться у человека на 6-й хромосоме (6p21.33). Пред-

полагают, что по своим физико-химическим свойствам он напоминает SP-B и SP-C, хотя и не имеет с ними структурного сходства, и принадлежит к еще неизученному классу сурфактантных белков.

В 2012 г. существование данного белка было подтверждено на криосрезах легких человека и мышей. *SFTA2* был идентифицирован как новый транскрипт, высоко экспрессируемый в легких, не имеющий гомолога и каких-либо узнаваемых доменных структур, общих для других белков. Это подчеркивает уникальность SP-G. Полученная 3D-модель позволяет предположить, что SP-G гидрофобен и, скорее всего, претерпевает посттрансляционные модификации, такие как фосфорилирование, гликозилирование и пальмитоилирование, как и уже известные SP-B и SP-C. Эти модификации являются ключевыми регуляторами активности белка в организме [56].

Было продемонстрировано, что SP-G не локализуется в органеллах, связанных с лизосомами, и его экспрессия не ограничена только А-II. Следовательно, представляется маловероятным, что этот белок (подобно SP-B или SP-C) непосредственно участвует в определении физических свойств ЛС. Более того, было показано, что он дифференциально экспрессируется в ответ на воспаление легких, индуцированное липополисахаридами. Дефекты SP-G могут быть непосредственно связаны с заболеваниями легких человека. Локус *SFTA2* был вовлечен в развитие диффузного панбронхиолита. Возможные механизмы пока неясны [82].

Помимо специфических белков, в составе ЛС также выявлены сывороточный альбумин, иммуноглобулины (Ig) G и A, комплемент C.

### Углеводы сурфактанта

Углеводные молекулы ЛС представлены глюкозой, галактозой, сиаловой кислотой, фруктозой и галактозамином. Их функциональное назначение и количественный состав в структуре САК практически не изучены. Предполагают, что, соединяясь со специфическими белками и подвергаясь различным модификационным изменениям, углеводные молекулы обеспечивают определенный путь перемещения ЛС внутри клетки, «готовность» к секреции и другие процессы, связанные с его формированием и выделением на поверхность альвеолы.

Таким образом, данные о биохимической природе ЛС свидетельствуют о сложном комплексе липидов, белков и углеводов, определенный состав и сложное соотношение которых на поверхности альвеолы обеспечивают стабильную внеклеточную организацию и полифункциональные возможности в РО легких.

### Секреция и внеклеточная структура мембран сурфактанта

Местом внутриклеточного синтеза всех трех основных компонентов ЛС (фосфолипидов, белков и углеводов) являются А-II, что в настоящее время

продемонстрировано в целом ряде экспериментов, выполненных как *in vivo*, так и *in vitro* [2]. Основные биохимические компоненты ЛС синтезируются независимо друг от друга, но накапливаются в одной структуре – ОПТ, каждый в своем компартменте. В свою очередь, содержимое ОПТ секретируется в гипофазу, в среде которой формируются сетчатые структуры резервного ЛС и монослойная пленка-мембрана на границе раздела фаз «воздух–жидкость».

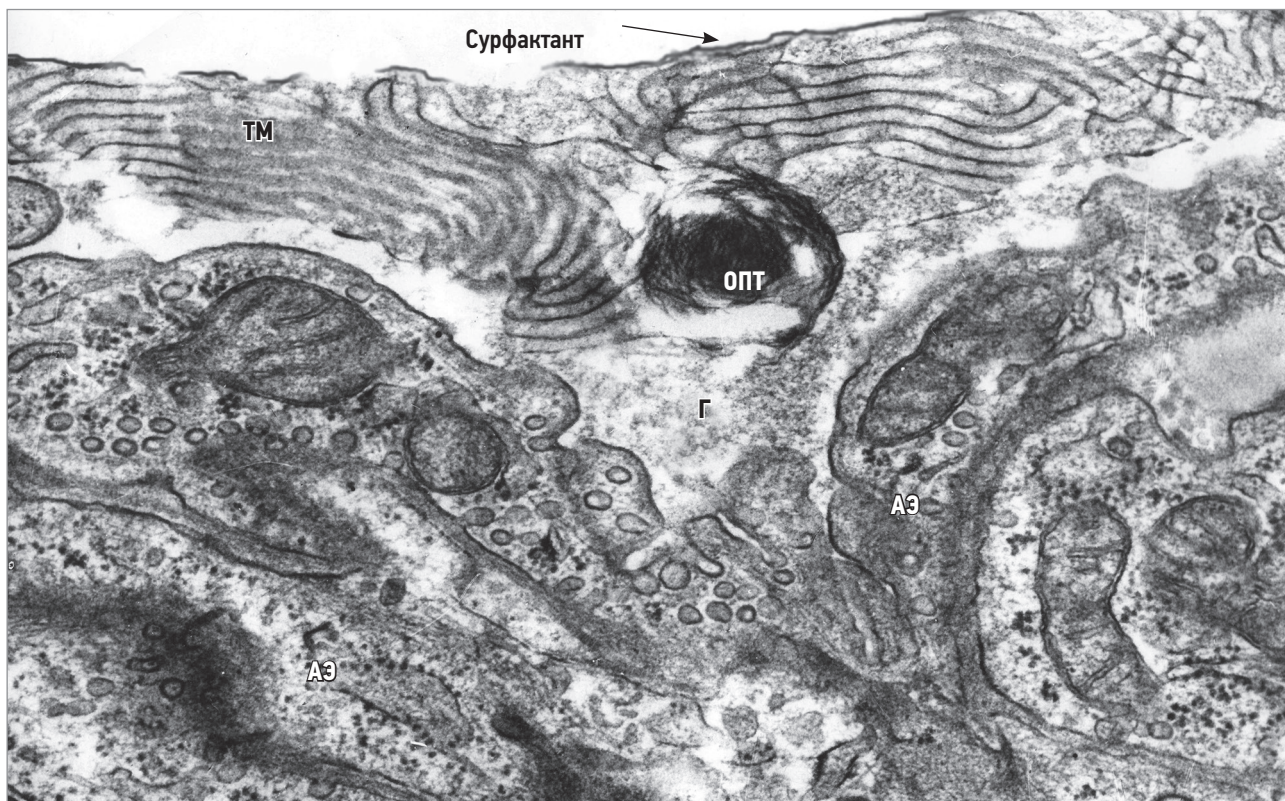
Согласно современным представлениям, секреторные гранулы А-II отличаются сложной ультраструктурной организацией, которая варьируется у разных видов млекопитающих. Разработка и совершенствование методов трансмиссионной электронной микроскопии позволили выявить в составе данных гранул разнородные участки, состоящие из ламелл, везикул или гомогенного вещества. Ламеллы имеют вид типичных бислойных мембран, упакованных с периодичностью 42–66 Å. В зависимости от особенностей их расположения относительно друг друга и везикулярного компонента выделяют 3 типа ОПТ у разных видов млекопитающих: гемисферические или концентрические (крысы, мыши), перекрестные (кролики), мультиламеллярные (обезьяна, человек). Секреция всех основных биохимических компонентов ЛС происходит одновременно, синхронно, содержимое ОПТ выделяется из клетки по мерокриновому типу (рис. 4В). В направленном продвижении зрелых ОПТ к апикальной поверхности А-II существенная роль принадлежит системе микротрубочек и микрофиламентов. Цитологические механизмы выведения содержимого ОПТ из клетки мало изучены. Определенную роль в этом процессе отводят ионам кальция [83].

Изучить топографию и тонкое строение внеклеточных мембран ЛС долгое время не удавалось из-за их крайней чувствительности к физическому воздействию и быстрого разрушения во время подготовки легочной ткани к электронномикроскопическому исследованию. Как показал опыт наших исследований, сохранить структуру внеклеточной выстилки альвеол (САК) возможно только при соблюдении принципов фиксации, предложенных *E. Weibel* и *J. Gil* [3]:

1. Граница раздела фаз «воздух–жидкость» во время фиксации должна оставаться интактной.
2. Фиксатор должен проникать в альвеолы со стороны гипофазы.
3. Чтобы сохранить все компоненты ЛС и тем самым избежать их вымывания при последующей обработке ткани, необходимо использовать комбинацию фиксаторов.

Однако и в этом случае редко удается наблюдать структуры ЛС на всем протяжении альвеолярной поверхности. Чаще всего они сохраняются в нишах между клетками АЭ. Именно в этих зонах отчетливо видно 2-фазное строение САК (рис. 6), состоящего:

- 1) Из собственно сурфактанта – наружной пленки-мембраны толщиной 8–10 нм, расположенной



**Рис. 6.** Сурфактантный альвеолярный комплекс на поверхности альвеолярного эпителия: наружная пленка – мембрана сурфактанта, гипофаза с мембранами резервного сурфактанта – тубулярным миелином;  $\times 38\,000$ , трансмиссионная электронная микроскопия.

Примечание: АЭ – альвеолярный эпителий; Г – гипофаза; ОПТ – осмиофильные пластинчатые тельца; ТМ – тубулярный миелин; стрелкой обозначена мембрана сурфактанта.

непосредственно на границе раздела фаз «воздух–жидкость»;

- 2) гипофаза – варьирующего по толщине (0,2–5,0 мкм) слоя внеклеточного коллоида, заполняющего углубления эпителиальной выстилки и сглаживающего поверхность АЭ. В его составе определяются мицеллы липогликопротеидов и фрагменты ОПТ, а также мембранные структуры резервного сурфактанта – ТМ, по определению *E.R. Weibel* [84].

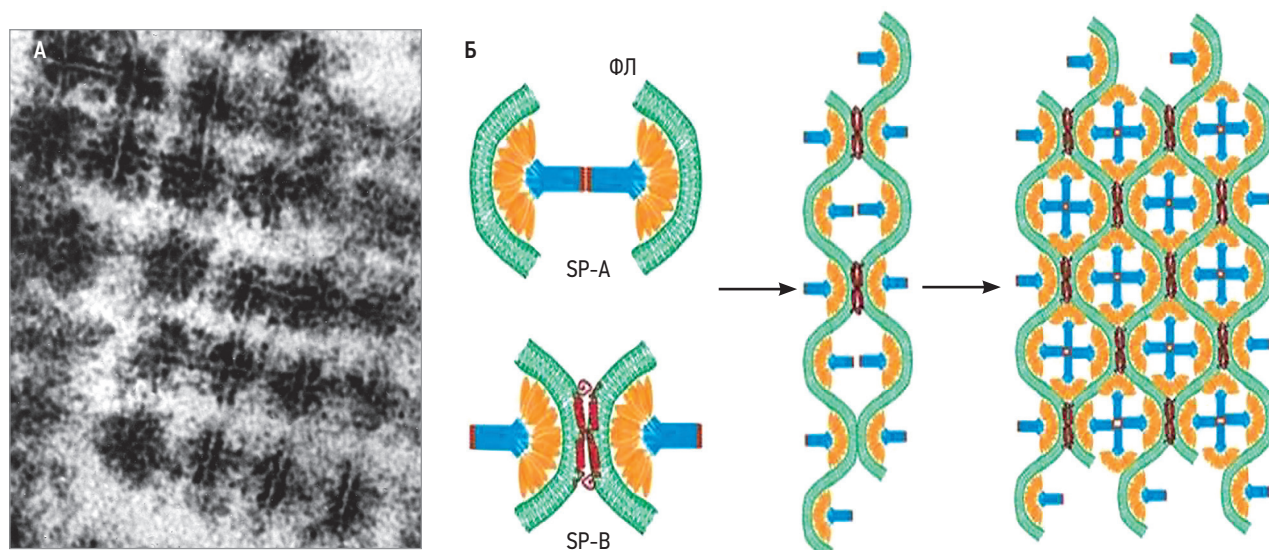
Электронномикроскопическое исследование позволило выявить удивительную архитектуру ТМ, которая не найдена ни в одной другой ткани млекопитающих. Его ультраструктурная организация варьирует в зависимости от условий фиксации и плоскости среза. При адекватной фиксации легкого путем перфузии глутарового альдегида через легочную артерию ТМ имеет вид сеточек или параллельно расположенных мембран (рис. 7А).

Каждая из них имеет характерную для биологической мембраны 3-слойную структуру: состоит из двух плотных осмиофильных слоев толщиной по 2,7 нм, разделенных электронно-прозрачным промежутком в 2,2 нм. Расстояние между двумя такими мембранами составляет 45–55 нм, что соответствует толщине гликопротеидного покрытия каждой элементарной мембраны. Пространство между ними заполнено электронно-прозрачным содержимым. В углах сеточек ТМ располагаются крупные глобулы белко-

вой природы ( $\approx 10$  нм в диаметре), принадлежащие, очевидно, SP-A. Они отчетливо выявляются в углах ячеек-квадратов, где лежат симметрично: по одной против каждого угла (рис. 7Б) и обеспечивают трехмерную организацию мембран ЛС в виде сеточек. Для формирования одной ячейки ТМ необходимо участие 4 белков SP-A.

«Головы» белков (CR-домены) взаимодействуют с ФЛ мембран, а N-концы «хвостов» контактируют друг с другом, образуя крестообразную форму. В местах контактов присутствует SP-B, вызывающий слияние мембран в этих зонах. Взаимодействие SP-A с мембранами приводит к формированию их волнистого профиля [85]. Соединение волнистых мембран между собой происходит за счет SP-A – SP-A взаимодействия.

Сегодня уже не вызывает сомнений тот факт, что нижние отделы резервной формы ЛС тесно связаны с выделяемыми из ОПТ ламеллами, тогда как верхние переходят в наружную пленку САК (рис. 6). Следовательно, ТМ является непосредственным источником формирования наружного мономолекулярного слоя, непосредственно участвующего в акте дыхания, а также площадкой для фиксации в пространстве гипофаза иммунологически активных белков ЛС и иммуноглобулинов плазмы, т. е. обеспечивает противоифекционную защиту респираторного эпителия. В связи с этим структурную организацию мембран САК у животных можно



**Рис. 7.** Ультраструктурная организация мембран тубулярного миелина: А – мембранная сеточка с глобулами белков при специфическом выявлении проционовым голубым;  $\times 70\,000$ , трансмиссионная электронная микроскопия; Б – схема сборки мембран тубулярного миелина с участием SP-A и SP-B

Примечание: ФЛ – фосфолипиды.

сравнить с разной резистентностью к инфекции: ТМ максимально развит у крыс и мышей и в значительно меньшей степени – у морских свинок, наиболее чувствительных к респираторным инфекциям, в т. ч. *M. tuberculosis* [2].

Липиды ЛС достигают ОПТ невезикулярными путями. Для этого в А-П имеются внутриклеточные белки-переносчики липидов и транспортеры для транслокации липидов в ОПТ. На сегодняшний день несколько белков липидной транслокации были идентифицированы с помощью иммунофлуоресценции, иммуногистохимии или вестерн-блоттинга из изолированных ОПТ. К ним относятся АТФ-связывающие транспортер ABCA3, лизосомальный интегральный мембранный белок-2 (LIMP-2, также известный как SCARB2), Ниманн–Пик С1 (NPC1) и Ниманн–Пик С2 (NPC2), а также АТФ-азы Р4-типа АТР8А1.

Перенос фосфолипидов во время их биогенеза является высокоэнергетическим процессом, катализируемым связыванием и гидролизом АТФ. Было выдвинуто предположение, что энергия, накопленная в процессе биогенеза ОПТ, придает комплексам ПВА энергетически нагруженное состояние, которое способствует их преобразованию в поверхностно-активную межфазную пленку ЛС при высвобождении из ОПТ [86].

### Утилизация и ресинтез сурфактанта

Для поддержания ЛС в состоянии функциональной активности необходимо постоянное обновление и встраивание вновь синтезированных молекулярных комплексов в его мембраны. Обновление ПАВ в органах дыхания происходит достаточно интенсивно, за 12–24 ч [6]. При этом большую часть «отработанных» молекул реутилизируют А-П. Рeadсорбция ЛС осуществляется путем эндоцитоза, в механизме

которого активная роль принадлежит белку SPA. Он взаимодействует со специфическими рецепторами на А-П и, очевидно, регулирует размеры внутриальвеолярного пула ПАВ, выступая в роли аутокринного фактора. Постоянная рециклизация молекул ЛС обеспечивает наиболее экономичный, быстрый и стабильный путь воспроизводства его поверхностно-активных свойств в альвеоле.

Другим важным механизмом удаления ЛС с поверхности альвеол служит его фагоцитоз АМ. Именно эти структуры выявляются в фагосомах АМ в норме, при компенсаторно-адаптационном увеличении количества ПАВ в единственном легком, при экспериментальном силикозе и пневмоцистозе [2, 87]. Об активном участии АМ в метаболизме ЛС свидетельствует высокое содержание в их цитоплазме различных фосфолипаз, катепсинов, арилсульфатазы и других гидролаз. При этом АМ поглощают не только отработанные, но и «лишние» мембраны внеклеточного ЛС, участвуя тем самым в регуляции определенного количества ПАВ на поверхности альвеол. С нарушениями поглотительной и/или протектолитической способности АМ связано избыточное накопление ЛС во внутриальвеолярном пространстве при альвеолярном липопротеинозе.

Помимо клеточных механизмов выведения отработанного ЛС происходит постоянный «дрейф» наружной его пленки из альвеолярного пространства в терминальные бронхиолы, который осуществляется за счет разницы градиента ПН в этих отделах [88]. Вместе с током подлежащей жидкости выносятся мелкие частицы и АМ, заполненные поглощенным материалом. В нижних отделах дыхательных путей под действием фосфолипаз и протеаз, вырабатываемых клетками Клара, компоненты ЛС постепенно разрушаются и посредством мукоцилиарного транспорта выводятся в верхние отделы и ротовую полость.

Доля участия каждого из рассмотренных путей клиренса ЛС зависит от состояния органов дыхания, наличия в альвеолах тех или иных изменений и требует специального изучения в каждом конкретном случае. Так, можно ожидать, что при развитии в респираторном отделе инфекционного процесса, для которого активация АМ является характерным звеном в реакции на возбудителя, эти клетки играют основную роль и в механизме клиренса ЛС. В свою очередь, факторы развития бактериального воспаления могут влиять на функциональное состояние фагоцитов и А-П, нарушая процессы метаболизма ЛС, что осложняет течение и исход самого воспалительного процесса.

### **Нарушения сурфактанта при различных заболеваниях органов дыхания**

О выраженном дефиците ЛС, развитии острой дыхательной недостаточности (ОДН) и смерти недоношенных младенцев (гестационный возраст < 27 нед.) впервые сообщили физиологи в начале 1950-х гг. [89]. Впоследствии многие исследователи пришли к заключению, что в момент первых дыхательных движений недостаток ЛС при выдохе приводит к резкому повышению ПН альвеол и коллапсу легкого. Главная причина РДС – отсутствие в составе АЭ достаточного числа дифференцированных А-П, содержащих «зрелые» ОПТ [6]. Для установления биохимической зрелости плода широкое распространение получило определение фосфолипидного состава амниотической жидкости. В тех случаях, когда величина соотношения фосфатидилхолин/сфингомиелин < 2, стали проводить стимуляцию выработки ЛС глюкокортикоидами [90]. Если у новорожденного имеются признаки стеральной ретракции, тахипноэ, одышки, происходит снижение легочного комплаенса, развитие билатеральных инфилтратов, то младенца сразу же переводят на механическую вентиляцию легких и заместительную терапию экзогенным ЛС (100 мг/кг), что позволяет снизить смертность от РДС на 10–40%. Установлено, что в ряде случаев РДС новорожденных связан с врожденной недостаточностью белка SP-B: у таких детей наблюдаются уменьшение числа ОПТ и нарушение нормальной структуры ТМ [91]. Развитие РДС может быть связано и с дефицитом белка-флиппазы ABCA3, с помощью которого осуществляется транспорт ФЛ в ОПТ [92].

Когда у взрослых впервые отметили клинические и морфологические признаки ОДН, сходные с РДС новорожденных, авторы назвали этот синдром «РДС взрослых». В дальнейшем чаще стали применять термин «острый РДС» (ОРДС), подчеркивая скорость развития дыхательной недостаточности [93]. Центральное звено в патогенезе острого повреждения легких и развития ОРДС занимает системная воспалительная реакция. Она развивается не только при инфекционных заболеваниях легких (пневмонии), но и у пациентов с тяжелыми травмами, постперфу-

зионным легочным синдромом, геморрагическим, септическим или анафилактическим шоком, эндотоксикациями (особенно при остром панкреатите), синдромом диссеминированного внутрисосудистого свертывания и другими критическими состояниями организма. Установлено, что действие шокогенных факторов активирует комплемент, в результате чего выделяются анафилотоксины С3а и С5а, влияющие на подвижность клеток крови. Агрегаты активированных гранулоцитов прилипают к эндотелию, дегранулируются с высвобождением гидролаз и оксидантов, которые повреждают мембраны воздушно-кровяного барьера и вызывают быстрое повышение его проницаемости для различных компонентов плазмы. Их выход во внутриаальвеолярное пространство приводит к механической деструкции, перекисному окислению и ферментативному расщеплению внеклеточных липогликопротеидов ЛС, взаимодействию их с фибриногеном и формированию гиалиновых мембран [94].

Определенный вариант изменений АЭ наблюдается, в частности, при развитии диффузного альвеолярного повреждения у больных с остро прогрессирующей казеозной пневмонией. Преимущественное разрушение А-П, преобладание в альвеолах кубического эпителия, состоящего из А-П без признаков выработки ЛС, зависят от глубины и распространенности деструктивных изменений воздушно-кровяного барьера, наличия внутриаальвеолярного отека и гиалиновых мембран, максимально выраженных на аутопсии. В операционном материале обычно можно наблюдать пролиферацию и трансформацию А-П в А-П – наиболее чувствительных к действию туберкулезной инфекции, а также отдельные А-П с гиперсекреторной активностью, т. е. имеются признаки регенерации АЭ. Своевременное проведение базовой терапии с интенсивным интратрахеальным введением различных препаратов натурального ЛС позволяет добиться заметного улучшения оксигенации у таких пациентов. В настоящее время в мировой практике отрабатывают тактику раннего выявления и профилактики развития ОРДС, где с учетом тяжести поражения в комплексе с методами прямой детоксикации и плазмафереза разрабатывают индивидуальные схемы заместительной сурфактант-терапии [95, 96].

Генетически обусловленный дефицит специфических белков ЛС (SP-B и SP-C) наблюдается у младенцев с врожденной формой альвеолярного протеиноза [97]. Он приводит к нарушению нормального строения внеклеточного ЛС, особенно ТМ, что в первую очередь отражается на биомеханике дыхания. Независимо от проводимой терапии, включая введение препаратов экзогенного ЛС, также новорожденные часто погибают от дыхательной недостаточности в первые месяцы жизни. Вторичный альвеолярный протеиноз обычно встречается у детей и взрослых с системными заболеваниями крови, аутоиммунным поражением мононуклеарных фагоцитов, развитием глубоких микозов, пневмоцистоза

и других инфекций [87, 98]. На начальных стадиях заболевания в материале БАЛ отмечают повышенное содержание ФЛ и всех белков ЛС, особенно SP-A и SP-D, на фоне сниженного содержания IgA в сыворотке крови. Патология связана с нарушением катаболизма сурфактанта АМ и чрезмерным накоплением в альвеолах его видоизмененного материала. Эффективность лечения зависит от своевременного выявления этиологического фактора; в противном случае нарастающая гипоксия приводит к развитию ИФЛ. У больных в составе ЛС уменьшается содержание поверхностно-активных ФЛ (дипальмитоилхолина и фосфатидилглицерола), повышается уровень фосфатидилинозитола, снижается выработка SP-A и SP-D в А-II [99, 100].

Среди факторов воспалительного процесса, оказывающих неблагоприятное воздействие на систему ЛС, следует выделить нарушения микроциркуляторного русла, деструктивное влияние компонентов экссудата на его внеклеточные мембраны [2]. Нельзя также исключить прямое действие микробов и их токсинов на компоненты внеклеточной выстилки альвеол. Развитие в этих условиях внутриальвеолярного отека, дис- и ателектаза, осложняющих течение инфекционного процесса, зависит от полноценности внутриклеточной выработки липогликопротеидов. При бактериальных и вирусных пневмониях она может происходить как в самом очаге инфекции, где часть клеток сохраняет секреторную активность, так и в прилежащей к нему паренхиме, где имеются признаки повышенного (компенсаторного) газообмена и активной внутриклеточной выработки нормально по структуре и физико-химическим свойствам ЛС.

Иная картина развивается в органах дыхания при туберкулезе. В этом случае характерное повышение проницаемости воздушно-кровяного барьера наблюдается не только в зоне формирования очагов инфекции, но также в перифокальной и более отдаленной, макроскопически нормальной, паренхиме. Это связано с особенностью персистенции *M. tuberculosis*, поражающих сосудистую систему всего легкого. Математическое моделирование секреторной функции А-II в свободной от очагов воспаления паренхиме позволило выявить необратимые нарушения процессов синтеза (закладки), созревания и экзоцитоза ОПТ, которые отражаются на физико-химических свойствах и фосфолипидном спектре БАЛ [88, 101]. Один из ранних признаков дисфункции ЛС в эксперименте и клинической картине туберкулезного воспаления – потеря способности его мембран формировать ТМ. Вместо сеточек на поверхности альвеол можно видеть в фагосомах АМ и непосредственно в материале БАЛ видоизмененные мембранные структуры («гигантские слоистые шары») без характерной 3-мерной организации – своеобразного морфологического маркера дисфункции ЛС.

О глубине деструктивных нарушений системы ЛС, кроме того, свидетельствует частота выявления в смыве разрушенных А-II и АМ. Морфофункци-

ональное состояние последних полностью зависит от структурной и биохимической полноценности мембран ЛС, что объясняет успешное применение препаратов сурфактанта в комплексе с этиотропной терапией туберкулеза органов дыхания [102]. Имеются определенные перспективы для применения экзогенного ЛС при лечении обструктивных заболеваний легких. Известны примеры снятия бронхообструкции и восстановления показателей функции дыхания после аэрозоль-терапии сурфактантом при бронхиальной астме с выявленным дефицитом SP-A и нарушениями биохимического состава ФЛ [103]. Моделирование в эксперименте аллергической реакции на грибы (*A. fumigatus*) позволило определить изменения поверхностной активности и белкового спектра ЛС, добиться частичного их восстановления, ослабления воспалительной реакции после введения экзогенного ЛС, обогащенного SP-D [104]. Эндогенную активацию выработки ЛС в А-II с помощью амброксола в настоящее время успешно применяют в комплексном лечении при подостром варианте экзогенного аллергического альвеолита [105].

Белки сурфактанта играют важную роль во взаимодействии с инфекционными агентами и управляют ответом организма на вторжение возбудителя. Ответ зависит от патогена и модели: человеческие и мышьи белки ЛС по-разному реагируют на один и тот же возбудитель, что важно учитывать при интерпретации результатов исследований.

Мыши с нокаутом SP-D при инфицировании вирусом гриппа А имеют повышенную восприимчивость к инфекции. Это выражается в увеличении вирусной нагрузки, инфильтрации клетками воспаления, выработке провоспалительных цитокинов и иммунопатологии, по сравнению с мышами дикого типа. Введение экзогенного SP-D в легкие подопытных животных снижает вирусную нагрузку и уменьшает инфильтрацию легких нейтрофилами, а также снижает уровни воспалительных цитокинов в легких, включая TNF- $\alpha$  и IL-6.

У мышей с нокаутом SP-A при инфицировании вирусом гриппа А, наряду с повышенной вирусной нагрузкой, развивается повреждение эпителия и повышается уровень IL-6, макрофагального воспалительного белка 2 (MIP-2) и происходит инфильтрация макрофагами и нейтрофилами. Введение экзогенного SP-A уменьшало проявления инфекции и выработку воспалительных цитокинов, включая TNF- $\alpha$ , IL-6 и интерферон- $\gamma$ .

Отмечена также реакция белков сурфактанта на инфекцию, вызываемую респираторно-синцитиальным вирусом (РСВ). Работа *in vitro* продемонстрировала способность SP-A нейтрализовать РСВ путем связывания F-белка. Кроме того, введение нативного SP-A мышам с нокаутом S-PA как предотвращало РСВ, так и снижало общее количество клеток воспаления в БАЛ. SP-D взаимодействует с РСВ как через F-белки, так и G-белки. Мыши с нокаутом SP-D

также имеют повышенный уровень воспалительных цитокинов после перенесенной инфекции, включая TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 и MIP-2. Введение экзогенного нативного SP-D человека в легкие мышей нейтрализует РСВ *in vivo*. Однако, несмотря на эти ранние исследования, в последнее время отсутствуют работы, демонстрирующие важность применения SP-D в предотвращении воспаления, вызванного РСВ.

SP-A и SP-D играют важную роль в модуляции течения коронавирусной инфекции. Продемонстрирована их способность связывать вирионы коронавируса 229E (HCoV-229E), тем самым предотвращая инфицирование эпителиальных клеток бронхов человека. Примечательно, что в нейтрализации вирионов HCoV-229E применение SP-D у таких больных было более эффективно, чем использование SP-A. В то же время SP-A уменьшал инфицирование альвеолярных макрофагов человека [106].

SP-A и SP-D связывают врожденный и адаптивный иммунитет, модулируя функции дендритных клеток, что является их ключевой функцией в регуляции воспалительной реакции. У мышей с нокаутом SP-D наблюдается повышенная активация дендритных клеток, о чем свидетельствует повышение экспрессии костимулирующих молекул CD11b и CD86 и повышенная экспрессия TNF- $\alpha$ . Этот эффект становится обратимым после введения рекомбинантного мышиного SP-D.

При ОРДС, ассоциированном с новой коронавирусной инфекцией COVID-19, SARS-CoV-2 атакует альвеолярные эпителиальные клетки, где высоко экспрессируется рецептор ACE2. Повреждение А-II нарушает синтез и функцию эндогенного ЛС. Обнаружено, что SP-A и SP-D, присутствующие в дыхательных путях и респираторном отделе, связываются с вирусным белком S, тем самым ослабляя инфицирование эпителиальных клеток. Клиническое исследование показало, что уровни дипальмитоилфосфатидилхолина в жидкости БАЛ пациентов с COVID-19 было ниже, чем у здоровых людей контрольной группы. Эти данные предполагают, что препараты сурфактанта могут использоваться в качестве поддерживающей терапии для лечения при COVID-19 и при ОРДС, ассоциированными с COVID-19.

С помощью биофизического моделирования было обнаружено, что вирусная субъединица S2 ингибирует биофизические свойства ЛС и, что наиболее важно, изменяет структуру монослоя экзогенного сурфактанта *in vitro*. Наиболее поразительным эффектом, оказываемым субъединицей S2, является изменение морфологии микродоменов ЛС, которые приобретали неправильную червеобразную форму, ингибируя функциональные свойства сурфактанта. Следует отметить, что препарат сурфактанта, используемый в этом исследовании, не содержал SP-A и SP-D. Это важно учитывать, так как показано, что рекомбинантный SP-D человека ингибирует репликацию и инфицирование SARS-CoV-2.

Молекулярный механизм, по-видимому, связан с SP-D-опосредованным взаимодействием между субъединицей S1 SARS-CoV-2 и рецептором ACE2 клеток человека [107].

### Заключение

Благодаря многолетнему изучению особенностей клеточных элементов респираторного эпителия и внеклеточной выстилки альвеолы сложилось современное представление о ее сложной структурной организации, обеспечивающей биомеханику дыхания и защиту от проникновения инфекции. Все типы альвеолоцитов имеют характерные ультраструктурные особенности и определенную функциональную специализацию: А-I формируют воздушно-кровяной барьер; А-II осуществляют физиологическую регенерацию и репарацию альвеолярного эпителия, синтез и секрецию ЛС; А-III – хеморецепторные клетки. Установлена определяющая роль различных биохимических компонентов ЛС в его сложной структурной организации, обеспечивающей эффективный газообмен и реакции врожденного иммунитета. Современные исследования направлены на выявление и дальнейшее изучение сурфактант-зависимых изменений при различных патологических состояниях органов дыхания. Открываются новые возможности для использования в клинической практике как уже известных специфических белков ЛС (SP-B, SP-C, SP-A, SP-D), так и нового белка SP-G, которые могут служить маркерами при многих заболеваниях органов дыхания.

В настоящее время принципиально новые возможности в изучении морфологических, структурных и функциональных особенностей АЭ и ЛС открывают не только современные методы микроскопии высокого разрешения, иммунофенотипирования и проточной цитометрии, но и методы, позволяющие проанализировать геном и транскриптом целых клеточных популяций и отдельных клеток. Уже формируются представления о значительно большем функциональном многообразии клеток АЭ, чем считалось ранее, и клеток РО в целом. Расширяются представления в т. ч. о субпопуляциях стволовых клеток АЭ. Современные научные открытия в этой области, несомненно, будут востребованы в регенеративной медицине и клинической практике.

### Литература

1. Mercer R.R., Russell M.L., Roggli V.L., Crapo J.D. Cell number and distribution in human and rat airways. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 1994; 10:613–624. DOI: 10.1165/ajrcmb.10.6.8003339.
2. Ерохин В.В., Лепеха Л.Н., Ерохина М.В., Ловачева О.В. Сурфактантная система при туберкулезе легких. М.: Нью Терра Москва; 2014: 270.
3. Weibel E.R., Gill J. Electron microscopic demonstration of an extracellular duplex lining layer of alveoli // *Respir. Physiol.* 1968; 4:42–57. DOI: 10.1016/0034-5687(68)90006-6.

4. Ochs M., Nyengaard J.R., Jung A., et al. The number of alveoli in the human lung. *Am J. Respir. Crit. Care Med.* 2004; 169: 120–124. DOI: 10.1164/rccm.200308-1107OC.
5. Wilson S.M., Olver R.E., Walters D.V. Developmental regulation of luminal lung fluid and electrolyte transport. *Respir. Physiol. Neurobiol.* 2007; 159: 247–255. DOI: 10.1016/j.resp.2007.10.004.
6. Ерохин В.В., Романова Л.К. Сурфактантная система легких в кн.: Клеточная биология легких в норме и при патологии. Под ред. В.В. Ерохина, Л.К. Романовой. М.: Медицина; 2000: 167–181.
7. Crapo J.D., Barry B.E., Bachofen M. et al. Cell number and cell characteristics of the normal human lung// *Am. Rev. Respir. Dis.* 1982; 125: 332–337. DOI: 10.1164/arrd.1982.126.2.332.
8. Stone K.C., Mercer R.R., Gehr P. et al. Allometric relationships of cell numbers and size in the mammalian lung. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 1992; 6: 235–243. DOI: 10.1165/ajrcmb/6.2.235.
9. Foliguet B., Grignon G. Type III pneumocyte. The alveolar brush-border cell in rat lung. Study by transmission electron microscopy. *Poumon Coeur.* 1980; 36(2): 149–153.
10. Frank J.A. Claudins and alveolar epithelial barrier function in the lung. *Ann. N Y Acad. Sci.* 2012; 1257:175–183. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2012.06533.
11. Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M. et al. *Molecular Biology of the Cell.* 5th. New York: Garland Science; 2007. ISBN 978-0-8153-4105-5
12. Johnson L.N., Koval M. Cross-talk between pulmonary injury, oxidant stress, and gap junctional communication. *Antioxid. Redox. Signal.* 2009; 11: 355–367. DOI: 10.1089/ars.2008.2183.
13. Романова Л.К. Респираторный отдел легких. В кн.: Ерохин В.В., Романова Л.К. (ред). Клеточная биология легких в норме и при патологии. М.: Медицина; 2000: 113–153.
14. Weibel E.R. The pathway for oxygen. Structure and function in the mammalian respiratory system. Cambridge: Harvard Univ. Press; 1984: 408.
15. Nielsen S., King L.S., Christensen B.M., Agre P. Aquaporins in complex tissues. II. Subcellular distribution in respiratory and glandular tissues of rat. *Am. J. Physiol.* 1997; 273:C1549–C1561. DOI: 10.1152/ajpcell.1997.273.5.C1549.
16. Johnson M.D., Bao H.F., Helms M.N. Functional ion channels in pulmonary alveolar type I cells support a role for type I cells in lung ion transport. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2006; 103:4964–4969. DOI: 10.1073/pnas.0600855103.
17. Gonzalez R.F., Allen L., Dobbs L.G. Rat alveolar type I cells proliferate, express OCT-4, and exhibit phenotypic plasticity in vitro. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2009; 297:L1045–L1055. DOI: 10.1152/ajplung.90389.2008.
18. Wang S., Hubmayr R.D. Type I alveolar epithelial phenotype in primary culture. *Am. J Respir. Cell Mol. Biol.* 2011; 44: 692–699. DOI: 10.1165/rcmb.2009-0359OC.
19. Campbell L., Hollins A.J., Al-Eid A. et al. Caveolin-1 expression and caveolae biogenesis during cell transdifferentiation in lung alveolar epithelial primary cultures. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1999; 262:744–751. DOI: 10.1006/bbrc.1999.1280.
20. Parton R.G., del Pozo M.A. Caveolae as plasma membrane sensors, protectors and organizers. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2013; 14:98–112. DOI: 10.1038/nrm3512.
21. Yamamoto K., Ferrari J.D., Cao Y. et al. Type I alveolar epithelial cells mount innate immune responses during pneumococcal pneumonia. *J. Immunol.* 2012; 189:2450–2459. DOI: 10.4049/jimmunol.1200634.
22. Wong M.H., Chapin O.C., Johnson M.D. Lps-stimulated cytokine production in type I cells is modulated by the renin-angiotensin system. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2012; 46:641–650. DOI: 10.1165/rcmb.2011-0289OC.
23. Stahlman M.T., Gray M.P., Falconieri M.W. et al. Lamellar body formation in normal and surfactant protein B-deficient fetal mice, *Lab. Invest.* 2000; 80:395–403. DOI: 10.1038/labinvest.3780044.
24. Williams M.C. Uptake of lectins by pulmonary alveolar type II cells: subsequent deposition into lamellar bodies // *Proc. Natl. Acad. Sci. – USA.* 1984; 81: 6383–6387. DOI: 10.1073/pnas.81.20.6383.
25. Qian Z., Travanty E.A., Oko L. et al. Innate immune response of human alveolar type II cells infected with severe acute respiratory syndrome-coronavirus. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 2013; 48:742–748. DOI: 10.1165/rcmb.2012-0339OC.
26. Wang J., Nikrad M.P., Phang T. et al: Innate immune response to influenza a virus in differentiated human alveolar type II cells. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2011; 45:582–591. DOI: 10.1165/rcmb.2010-0108OC.
27. Weinheimer V.K., Becher A., Tonnie M., et al: Influenza a viruses target type II pneumocytes in the human lung. *J. Infect. Dis.* 2012; 206:1685–1694. DOI: 10.1093/infdis/jis455
28. Tolle L.B., Standiford T.J. Danger-associated molecular patterns (damps) in acute lung injury. *J. Pathol.* 2013; 229:145–156. DOI: 10.1002/path.4124.
29. Rock J.R., Barkauskas C.E., Crouse M.J, Hogan B.L.M. Multiple stromal populations contribute to pulmonary fibrosis without evidence for epithelial to mesenchymal transition. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2011; 108: E1475–E1483. DOI: 10.1073/pnas.1117988108.
30. Tran E., Shi T., Li X. et al. Development of human alveolar epithelial cell models to study distal lung biology and disease. *iScience.* 2022; 25 (2): 103780. DOI: 10.1016/j.isci.2022.103780.
31. Evans K.V., Lee J.H. Alveolar wars: The rise of in vitro models to understand human lung alveolar maintenance, regeneration, and disease. *Stem Cells Transl. Med.* 2020; 9(8):867–881. DOI: 10.1002/sctm.19-0433.
32. Travaglini, K.J., Nabhan, A.N., Penland, L. et al. A molecular cell atlas of the human lung from single-cell RNA sequencing. *Nature.* 2020; 587: 619–625. DOI: 10.1038/s41586-020-2922-4.
33. Basil M.C., Morrisey E.E. BASC-ing in the glow: bronchioalveolar stem cells get their place in



- the lung. *EMBO J.* 2019; 38:e102344. DOI: 10.15252/embj.2019102344.
34. Pattle R.E. Properties, function and origin of the alveolar lining layer. *Nature.* 1955; 175(4469): 1125–1126. DOI: 10.1038/1751125b0.
35. Петров О.В. Сурфактанты легкого в норме и патологии. Киев: Наукова думка; 1983: 141–146.
36. v. Neergaard, K. Neue Auffassungen über einen Grundbegriff der Atemmechanik. *Z. Ges. Exp. Med.* 1929; 66: 373–394. DOI: 10.1007/BF02621963.
37. Clements J.A. Surface tension of lung extracts. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1957; 95(1): 170–172. DOI: 10.3181/00379727-95-23156.
38. Вейбель Э.Р. Морфометрия легких человека. М.: Медицина; 1971: 176.
39. Березовский В.А., Горчаков В.Ю. Поверхностно-активные вещества легкого. Киев: Наукова Думка; 1982: 165.
40. Heffner J.E., Repine J.E. Pulmonary strategies of antioxidant defense. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1989; 140(2): 531–554. DOI: 10.1164/ajrccm/140.2.531.
41. Perez-Gil J. Structure of pulmonary surfactant membranes and films: The role of proteins and lipid–protein interactions. *Biochim. Biophys. Acta.* 2008; 1778(7–8): 1676–1695. DOI: 10.1016/j.bbamem.2008.05.003.
42. Perez-Gil J., Weaver T.E., Pulmonary Surfactant Pathophysiology: Current Models and Open Questions. *Physiology (Bethesda).* 2010; 25(3): 132–141. DOI: 10.1152/physiol.00006.2010.
43. Veldhuizen R., Nag K., Orgeig S., Possmayer F. The role of lipids in pulmonary surfactant. *Biochim. Biophys. Acta.* 1998; 1408(2–3): 90–108. DOI: 10.1016/s0925-4439(98)00061-1.
44. Goerke J. Pulmonary surfactant: functions and molecular composition. *Biochim Biophys. Acta.* 1998; 1408(2–3): 79–89. DOI: 10.1016/s0925-4439(98)00060-x.
45. Shelley S.A., Balis J.I., Paciga J.E. et al. Biochemical composition of adult human lung surfactant. *Lung.* 1982; 160(4): 195–206. DOI: 10.1007/BF02719293.
46. Wustneck R., Perez-Gil J., Wustneck N. et al. Interfacial properties of pulmonary surfactant layers. *Adv. Colloid Interface Sci.* 2005; 117(1–3): 33–58. DOI: 10.1016/j.cis.2005.05.001.
47. Wu G., Aoyama C., Young S.G., Vance D.E. Early embryonic lethality caused by disruption of the gene for choline kinase alpha, the first enzyme in phosphatidylcholine biosynthesis. *J. Biol. Chem.* 2008; 283(3): 1456–1462. DOI: 10.1074/jbc.M708766200.
48. Fisher A.B., Dodia C. Lysosomal-type PLA2 and turnover of alveolar DPPC. *Am J Physiol. Lung. Cell Mol. Physiol.* 2001; 280(4): L748–L754. DOI: 10.1152/ajplung.2001.280.4.L748.
49. Chen J.W., Dodia C., Feinstein S.I. et al. 1-Cys peroxidase, a bifunctional enzyme with glutathione peroxidase and phospholipase A2 activities. *J. Biol. Chem.* 2000; 275(37): 28421–28427. DOI: 10.1074/jbc.M005073200.
50. Nakanishi H., Shindou H., Hishikawa D. et al. Cloning and characterization of mouse lung-type acyl-CoA:lysophosphatidylcholine acyltransferase 1 (LPCAT1). Expression in alveolar type II cells and possible involvement in surfactant production. *J. Biol. Chem.* 2006; 281(29): 20140–20147. DOI: 10.1074/jbc.M600225200.
51. Каминская Г.О. Фактор активации тромбоцитов и его роль в легочной патологии. Проблемы туберкулеза. 1994; 10: 123–132.
52. Bagatolli L.A. To see or not to see: lateral organization of biological membranes and fluorescence microscopy. *Biochim. Biophys. Acta.* 2006; 1758(10): 1541–1556. DOI: 10.1016/j.bbamem.2006.05.019.
53. de la Serna J., Perez-Gil J., Simonsen A.C., Bagatolli L.A. Cholesterol rules: direct observation of the coexistence of two fluid phases in native pulmonary surfactant membranes at physiological temperatures. *Biol. Chem.* 2004; 279(39): 40715–40722. DOI: 10.1074/jbc.M404648200.
54. Crouch E., Wright J.R. Surfactant proteins A and D and pulmonary host defense, *Annu. Rev. Physiol.* 2001; 63: 521–554. DOI: 10.1146/annurev.physiol.63.1.521.
55. Crouch E.C. Structure, biologic properties, and expression of surfactant protein D (SP-D). *Biochim. Biophys. Acta.* 1998; 1408(2–3): 278–289. DOI: 10.1016/s0925-4439(98)00073-8.
56. Rausch F., Schicht M., Paulsen F. et al. “SP-G”, a Putative New Surfactant Protein – Tissue Localization and 3D Structure. *PLoS One.* 2012; 7(10): e47789. DOI: 10.1371/journal.pone.0047789.
57. Serrano A.G., Pérez-Gil J. Protein-lipid interactions and surface activity in the pulmonary surfactant system. *Chem. Phys. Lipids.* 2006; 141(1–2): 105–18. DOI: 10.1016/j.chemphyslip.2006.02.017.
58. Weaver T.E. Synthesis, processing and secretion of surfactant proteins B and C. *Biochim. Biophys. Acta.* 1998; 1408(2–3): 173–179. DOI: 10.1016/s0925-4439(98)00066-0.
59. Ueno T., Linder S., Na C.L. et al. Processing of pulmonary surfactant protein B by napsin and cathepsin H. *J. Biol. Chem.* 2004; 279(16): 16178–16184. DOI: 10.1074/jbc.M312029200.
60. Patthy L., Homology of the precursor of pulmonary surfactant-associated protein SP-B with prosaposin and sulfated glycoprotein I. *J. Biol. Chem.* 1991; 266(10): 6035–6037. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021925818380797>.
61. Keller A., Eistetter H.R., Voss T., Schafer K.P. The pulmonary surfactant protein C (SP-C) precursor is a type II transmembrane protein. *Biochem. J.* 1991; 277(2): 493–499. DOI: 10.1042/bj2770493.
62. Beers M.F., Mulugeta S. Surfactant protein C biosynthesis and its emerging role in conformational lung disease. *Annu. Rev. Physiol.* 2005; 67: 663–696. DOI: 10.1146/annurev.physiol.67.040403.101937.
63. Melton K.R., Nesselin L.L., Ikegami M. et al. SP-B deficiency causes respiratory failure in adult mice. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2003; 285(3): L543–L549. DOI: 10.1152/ajplung.00011.2003.
64. Williams M.C., Howgood S., Hamilton R.L. Changes in lipid Structure produced by surfactant pro-

- teins SP-A, SP-B and SP-C. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 1991; 5(1): 41–50. DOI: 10.1165/ajrcmb/5.1.41.
65. Liekkinen J., Olżyńska A., Cwiklik L. et al. Surfactant Proteins SP-B and SP-C in Pulmonary Surfactant Monolayers: Physical Properties Controlled by Specific Protein-Lipid Interactions. *Langmuir.* 2023; 39(12): 4338–4350.
66. Hawgood S., Poulain F.R. The pulmonary collectins and surfactant metabolism. *Annu. Rev. Physiol.* 2001; 63: 495–519. DOI: 10.1146/annurev.physiol.63.1.495.
67. van de Wetering J.K., van Golde L.M., Batenburg J.J. Collectins: players of the innate immune system. *Eur. J. Biochem.* 2004; 271(7): 1229–1249. DOI: 10.1111/j.1432-1033.2004.04040.x.
68. Kishore U., Greenhough T.J., Waters P. et al. Surfactant proteins SP-A and SP-D: Structure, function and receptors. *Mol. Immunol.* 2006; 43(9): 1293–1315. DOI: 10.1016/j.molimm.2005.08.004.
69. Sanchez-Barbero F., Strassner J., Garcia-Canero R. et al. Role of the degree of oligomerization in the structure and function of human surfactant protein A. *J. Biol. Chem.* 2005; 280(9): 7659–7670. DOI: 10.1074/jbc.M410266200.
70. Voorhout W.F., Veenendaal T., Haagsman H.P. et al. Surfactant protein A is localized at the corners of the pulmonary tubular myelin lattice. *J. Histochem. Cytochem.* 1991; 39(10): 1331–1336. DOI: 10.1177/39.10.1940306.
71. Ikegami M., Hull W.M., Yoshida M. et al. SP-D and GM-CSF regulate surfactant homeostasis via distinct mechanisms. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2001; 281(3): L697–L703. DOI: 10.1152/ajplung.2001.281.3.L697.
72. Madan T., Reid K.B., Clark H. et al. Susceptibility of mice genetically deficient in SP-A or SP-D gene to invasive pulmonary aspergillosis. *Mol. Immunol.* 2010; 47(10): 1923–1930. DOI: 10.1016/j.molimm.2010.02.027.
73. LeVine A.M., Whitsett J.A. Pulmonary collectins and innate host defense of the lung. *Microbes Infect.* 2001; 3(2): 161–166. DOI: 10.1016/s1286-4579(00)01363-0.
74. Reading P.C., Allison J., Crouch E.C. Increased susceptibility of diabetic mice to influenza virus infection: compromise of collectin-mediated host defense of the lung by glucose? *J. Virol.* 1998; 72(8): 6884–6887. DOI: 10.1128/JVI.72.8.6884-6887.1998.
75. Hillaire M.L., Haagsman H.P., Osterhaus A.D. et al. Pulmonary surfactant protein D in first-line innate defence against influenza A virus infections. *J. Innate. Immun.* 2013; 5(3): 197–208. DOI: 10.1159/000346374.
76. Hillaire M.L., van Eijk M., Vogelzang-van Trierum S.E. et al. Recombinant porcine surfactant protein D inhibits influenza A virus replication *ex vivo*. *Virus Res.* 2014; 181: 22–26. DOI: 10.1016/j.virusres.2013.12.032.
77. van de Wetering J.K., van Eijk M., van Golde L.M. et al. Characteristics of surfactant protein a and d binding to lipoteichoic acid and peptidoglycan, 2 major cell wall components of gram-positive bacteria. *J. Infect. Dis.* 2001; 184(9): 1143–1151. DOI: 10.1086/323746.
78. Ferguson J.S., Martin J.L., Azad A.K. et al. Surfactant protein D increases fusion of mycobacterium tuberculosis-containing phagosomes with lysosomes in human macrophages. *Infect. Immun.* 2006; 74(12): 7005–7009. DOI: 10.1128/IAI.01402-06.
79. Vandivier R.W., Ogden C.A., Fadok V.A. et al. Role of surfactant proteins A, D, and C1q in the clearance of apoptotic cells *in vivo* and *in vitro*: calreticulin and CD91 as a common collectin receptor complex. *J. Immunol.* 2002; 169(7): 3978–3986. DOI: 10.4049/jimmunol.169.7.3978.
80. Daleke D.L. Phospholipid flippases. *J. Biol. Chem.* 2007; 282(2): 821–825. DOI: 10.1074/jbc.R600035200.
81. Shulenin S., Nogee L.M., Annilo T. et al. ABCA3 gene mutations in newborns with fatal surfactant deficiency. *N. Engl. J. Med.* 2004; 350(13): 1296–1303. DOI: 10.1056/NEJMoa032178.
82. Mittal R.A., Hammel M., Schwarz J., et al. SFTA2 – a novel secretory peptide highly expressed in the lung – is modulated by lipopolysaccharide but not hyperoxia. *PLoS One.* 2012; 7(6): e40011. DOI: 10.1371/journal.pone.0040011.
83. Corbet A., Voelker R., Murphy F. Effect calcium, lanthanum and other calcium antagonists on the lung phospholipid secretion produced by lung distension in newborn rabbits. *Am. J. Med. Sci.* 1991; 301(2): 102–114. DOI: 10.1097/00000441-199102000-00005.
84. Weibel E.R., Kistler G.S., Tondury G. A stereologic electron microscope study of “tubular myelin figures” in alveolar fluids of rat lungs. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.* 1966; 69: 418–427. DOI: 10.1007/BF00406293.
85. Palaniyar N., Ridsdale R.A., Hearn S.A. et al. Filaments of surfactant protein A specifically interact with corrugated surfaces of phospholipid membranes. *Am. J. Physiol.* 1999; 276(4): 631–641. DOI: 10.1152/ajplung.1999.276.4.L631.
86. Dietl P., Frick M. Channels and Transporters of the Pulmonary Lamellar Body in Health and Disease. *Cells.* 2021; 11(1): 45.
87. Лепеха Л.Н. Макрофаги легких. В кн.: Ерохин В.В., Романова Л.К. (ред.) Клеточная биология легких в норме и при патологии. М.: Медицина; 2000: 234–252.
88. Morgenroth K., Bolz J. Morphological features of the interaction between mucus and surfactant on the bronchial mucos. *Respiration.* 1985; 47(3): 225–231. DOI: 10.1159/000194774.
89. Пузырева Н.И., Ларюшкина Р.М., Рыжкова Н.К. Синдром дыхательных расстройств и сурфактант легких у новорожденных. М.: Медицина; 1987: 147.
90. Загоруйко А.К., Биркун А.А., Новиков Н.А. Сурфактантная система легких и заместительная сурфактантная терапия. Симферополь: Крымский мед. ин-т; 1995: 74.
91. Wert S.E., Whitsett J.A., Nogee L.M. Genetic disorders of surfactant dysfunction. *Pediatr. Dev. Pathol.* 2009; 12: 253–274. DOI: 10.2350/09-01-0586.1.

92. Henderson L.B., Melton K., Wert S. et al. Large ABCA3 and SFTPC deletions resulting in lung disease. *Ann. Am. Thorac. Soc.* 2013; 10: 602–607. DOI: 10.1513/AnnalsATS.201306-1700C.
93. Lewis J.F., Jobe A.H. Surfactant and the adult respiratory distress syndrome. *Respir. Dis.* 1993; 147: 218–233. DOI: 10.1164/ajrccm/147.1.218.
94. Киров М.Ю., Кузьков В.В., Недашковский Э.В. Острое повреждение легких при сепсисе: патогенез и интенсивная терапия. Архангельск: Северный ГМУ; 2004: 96.
95. Воинов В.А. Эфферентная терапия. Мембранный плазмоферез. М.: Новости; 2006: 304.
96. Левшанков А.И., Розенберг О.А. Отечественные препараты легочного сурфактанта. Сурфактант-терапия респираторного дистресс-синдрома новорожденных и взрослых. СПб.: ООО «Ритм»; 2001: 120.
97. Noguee L.M. Alterations in SP-BSP-B and SP-CSP-C expression in neonatal lung disease. *Annu. Rev. Physiol.* 2004; 66: 601–623. DOI: 10.1146/annurev.physiol.66.032102.134711.
98. Лепеха Л.Н., Бархина Т.Г., Пархоменко Ю.Г. Пневмоцистоз легкого в эксперименте и клинике. Архив патологии. 1998; 5: 46–51.
99. McCormack F.X., King T.E. Jr, Bucher B.L. et al. Surfactant protein A predicts survival in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1995; 152: 751–759. DOI: 10.1164/ajrccm.152.2.7633738.
100. Honda Y., Kuroki Y., Matsuura E. et al. Pulmonary surfactant protein D in sera and bronchoalveolar lavage fluids. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1995; 152: 1860–1866. DOI: 10.1164/ajrccm.152.6.8520747.
101. Ерохин В.В., Лепеха Л.Н. Сурфактант-зависимый ателектаз при туберкулезе легких. Архив патологии. 1998; 5: 41–46.
102. Черниченко Н.В., Шергина Е.А., Ловачева О.В. и др. Динамика вентиляционной и газообменной функции при применении препарата сурфактанта у больных туберкулезом легких. Проблемы туберкулеза. 2006; 6: 6–9.
103. Maason R., Lewis J. Pulmonary Surfactant. In: Murray J., Nadel J. (eds). *Textbook of Respiratory Medicine*. 3<sup>rd</sup> Edn. W.B. Saunders Company. 2000.
104. Strong P., Reid K.B., Clark H. Intranasal delivery of a truncated recombinant human SP-DSP-D is effective at down-regulating allergic hypersensitivity in mice sensitized to allergens of *Aspergillus fumigatus*. *Clin. Exp. Immunol.* 2002; 130: 19–24. DOI: 10.1046/j.1365-2249.2002.01968.
105. Макарьянц Н.Н., Лепеха Л.Н., Карпина Н.Л. и др. Опыт применения лазолвана в лечении больных экзогенным аллергическим альвеолитом подострого течения. *Доктор.ру.* 2011; 6: 54–57. Доступно на: <https://cyberleninka.ru/article/n/opyt-primeneniya-lazolvana-v-lechenii-bolnyh-ekzogennym-allergicheskim-alveolitom-podostrogo-techeniya>
106. Makaryants N.N., Lepekha L.N., Karpina N.L., etc. The experience of using lazolvan in the treatment of patients with exogenous allergic alveolitis of subacute course. *Doctor.ru.* 2011; 6: 54–57. Available on: <https://cyberleninka.ru/article/n/opyt-primeneniya-lazolvana-v-lechenii-bolnyh-ekzogennym-allergicheskim-alveolitom-podostrogo-techeniya> (in Russian).
107. Watson A., Madsen J., Clark H.W. SP-A and SP-D: Dual Functioning Immune Molecules With Antiviral and Immunomodulatory Properties. *Front. Immunol.* 2021; 11: 622598
108. Xu X., Li G., Sun B., Zuo Y.Y. S2 Subunit of SARS-CoV-2 Spike Protein Induces Domain Fusion in Natural Pulmonary Surfactant Monolayers. *J. Phys. Chem. Lett.* 2022; 13(35): 8359–8364. DOI: 10.1021/acs.jpcclett.2c01998.

#### Информация об авторах

**Лепеха Лариса Николаевна** — д. б. н., профессор, главный научный сотрудник отдела патоморфологии, клеточной биологии и биохимии ФГБНУ «ЦНИИ туберкулеза»; тел.: (499) 785-91-79; e-mail: lep3@yandex.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6894-2411>)

**Ерохина Мария Владиславовна** — д. б. н., доцент, заместитель зав. кафедрой клеточной биологии и гистологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова», зав. лабораторией клеточной биологии отдела патоморфологии, клеточной биологии и биохимии ФГБНУ «ЦНИИ туберкулеза»; тел.: (495) 939-45-67; e-mail: masha.erokhina@gmail.com (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7256-4679>)

**Тарасова Екатерина Константиновна** — магистр биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории клеточной биологии отдела патоморфологии, клеточной биологии и биохимии ФГБНУ «ЦНИИ туберкулеза»; (499) 785-91-79; e-mail: shalioto6@gmail.com (ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0438-7233>)