

- режимов комбинированной терапии у пациентов с тяжелой неконтролируемой бронхиальной астмой. *Качеств. клин. практика* 2002; 2: 18–26.
5. Петров В.И., Смоленов И.В., Медведева С.С. Качество жизни детей с бронхиальной астмой, как критерий эффективности проводимой терапии. *Вестн. Волгоград. мед. акад.* 1996; 67–69.
 6. Петров В.И., Смоленов И.В., Медведева С.С., Смирнов Н.А. Качество жизни при бронхиальной астме: методы оценки в педиатрической практике. *Рос. педиатр. журн.* 1998; 4: 16–21.
 7. Петров В.И., Смоленов И.В., Медведева С.С. и др. Качество жизни детей с бронхиальной астмой: влияние базисной комбинированной терапии. *Аллергология* 1999; 4: 4–11.
 8. Руководство для врачей России "Бронхиальная астма. Формулярная система". *Пульмонология* 1999; прил.: 1–40.
 9. Сенкевич Н.Ю. Качество жизни при хронической обструктивной болезни легких. В кн.: А.Г.Чучалин (ред.) *Хронические обструктивные болезни легких*. М.: Бином; 1998. 171–191.
 10. Сенкевич Н.Ю. Качество жизни и кооперативность больных бронхиальной астмой: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М.; 2000.
 11. Совместный доклад Национального института Сердце, Легкие, Кровь и Всемирной организации здравоохранения "Бронхиальная астма. Глобальная стратегия". *Пульмонология* 1996; прил.: 1–165.
 12. Чучалин А.Г. Тяжелая бронхиальная астма. *Рус. мед. журн.* 2000; 8 (12): 482–486.
 13. Шмелев Е.И., Беда М.В., Jones P.W., Thwaites R., Чучалин А.Г. Качество жизни больных хроническими обструктивными болезнями легких. *Пульмонология* 1998; 2: 79–81.
 14. Ayres J.G., Miles J.F., Barnes P.J. Brittle asthma. *Thorax* 1998; 53: 315–321.
 15. Creer T.L., Wigal J.K., Kotses H., McConnaughy K., Winder J.A. A life activities questionnaire for adult asthma. *J. Asthma* 1992; 29: 393–399.
 16. Difficult/therapy-resistant asthma. ERS Task Force on Difficult/therapy-resistant asthma. *Eur. Respir. J.* 1999; 13: 1198–120.
 17. Jones P.W. Health status, quality of life and compliance. *Eur. Respir. Rev.* 1998; 8 (56): 243–246.
 18. Juniper E.F., Guyatt G.H., Ferrue P.J., Griffith L.E. Measuring QoL in Asthma. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1993; 147: 832–838.
 19. Thwaites R.M., Price M.S. Уменьшение бремени бронхиальной астмы: улучшение качества жизни пациентов. *Пульмонология* 1998; 3: 19–23.

Поступила 18.11.02

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2002

УДК 616.248–085.277.3.032.23+[616–092:612.017.1]–07

*Е.И.Соколов¹, А.Л.Пухальский², К.А.Зыков¹, Г.В.Шмарина², Л.Ю.Матько¹,
Ю.И.Демидов¹, С.Н.Кокаровцева², В.И.Шевелев¹*

ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ ЭФФЕКТЫ ИНГАЛЯЦИЙ УЛЬТРАНИЗКИХ ДОЗ АЛКИЛИРУЮЩЕГО ЦИТОСТАТИКА МЕЛФАЛАНА У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

¹ Лаборатория пульмонологии Московского государственного медико-стоматологического университета;

² Медико-генетический научный центр РАМН, Москва

IMMUNOMODULATING EFFECTS OF INHALED ALKYLATING DRUG MELPHALAN IN ASTHMATIC PATIENTS

E.I.Sokolov, A.L.Pukhalsky, K.A.Zykov, G.V.Shmarina, L.Yu.Matko, Yu.I.Demidov, S.N.Kokarovtseva, V.I.Shevelev

Summary

Melphalan (Alkeran) is an alkylating drug belonging to the nitrogen mustard family. It is known as cytostatic and immunosuppressive agent. Cytostatic effect of melphalan can be realized in the dose range of 0.6 to 1.4 mg/kg bodyweight or in the concentration of 0.1 mg/ml *in vitro*. At the same time the 100-fold lower concentrations of the alkylating agents still demonstrate their properties resulted from a selective block of cytokine receptors. Forty two patients with exacerbation of steroid-resistant asthma were enrolled into the trial. Twenty one subjects were treated with basic therapy only (the control group) and 21 others received the basic therapy and melphalan inhalations (0.1 mg daily). Inflammatory markers of the bronchoalveolar lavage fluid and blood were investigated. The combined therapy with melphalan provided a significant benefit compared with the basic therapy alone. Marked elevation in the bronchoalveolar lavage fluid cytokine level was observed in the patients treated with melphalan. This could be associated with the airway epithelium regeneration. A significant decrease in CD95 expression by the blood lymphocytes as well as a diminution of the lymphocyte resistance to glucocorticoids was also demonstrated.

Резюме

Мелфалан (Алкеран®) представляет собой алкилирующий препарат, относящийся к семейству азотистых ипритов и обладающий выраженной цитостатической и иммунодепрессивной активностью. Цитостатический эффект мелфалана обнаруживается в дозах 0,6–1,4 мг/кг или в концентрации

0,1 мг/мл в опытах *in vitro*. В то же время при снижении концентрации в 100 раз и более алкилирующие препараты продолжают обнаруживать биологическую активность, которая является результатом селективной блокады цитокиновых рецепторов. В исследование были включены 42 пациента с тяжелой бронхиальной астмой. Половина больных получала стандартную терапию (контрольная группа), а другой половине дополнительно ингалировали мелфалан (0,1 мг в день). У всех больных исследовали динамику маркеров воспаления в бронхиальном смыве и периферической крови. Показано, что комбинация базисной терапии и ингаляций мелфалана давала существенно более благоприятный эффект, чем стандартные методы лечения. В образцах бронхиального смыва было обнаружено заметное повышение уровня цитокинов, что может быть связано с регенерацией эпителия бронхов, признаки которой ранее были обнаружены при морфологическом исследовании. В периферической крови было обнаружено значимое снижение числа клеток, экспрессирующих CD95, а также повышение чувствительности лимфоцитов к антипролиферативному действию глюкокортикоидов.

Тяжелая бронхиальная астма (БА) является серьезной проблемой в пульмонологии. Развитие стероидзависимости и стероидрезистентности усугубляет ситуацию и требует разработки новых подходов к лечению данной патологии. Для коррекции этих состояний предпринимались многочисленные попытки, включая применение препаратов цитостатического и иммунодепрессивного действия, в том числе такие алкилирующие соединения, как циклофосамид, хлорамбуцил и т.д. Эти препараты были призваны полностью подавить иммунный ответ и, тем самым, снизить интенсивность воспаления в бронхиальном дереве. Однако из-за высокой частоты побочных эффектов использование подобных подходов является крайне diskutabelным.

В настоящее время доминируют представления об универсальности действия алкилирующих соединений, согласно которым их цитостатический эффект связан с образованием внутри- и межмолекулярных сшивок ДНК-ДНК, а также со вступлением в реакцию алкилирования аминокислотных остатков, в результате чего нарушается вторичная и третичная структура белковой молекулы и меняются гидрофобные взаимодействия.

Мелфалан (рис.1), являясь бифункциональным алкилирующим соединением, как и другие препараты этого класса, алкилирует многие внутриклеточные молекулы при режиме дозирования, применяемом в онкологической практике. Эта активность обусловлена образованием нестабильного иона этилениммониума, который и взаимодействует с внутриклеточными структурами [11]. Разумеется, ДНК не является единственной мишенью для алкилирования, однако другие объекты (РНК, белки) не играют существенной роли в обеспечении цитостатического эффекта при использовании препарата в дозах, способных повреждать ДНК. В то же время при последовательном

снижении дозы число мишеней для алкилирующих агентов уменьшается. Теоретически можно представить ситуацию, когда в клетке останется лишь один тип молекул, чувствительных к действию сверхмалых концентраций алкилирующего соединения. Это предположение было подтверждено в экспериментах *in vitro* на лимфоцитах периферической крови человека и клетках селезенки мышей. Так, при использовании алкилирующих агентов в дозе более 100 мкг/мл происходят необратимые повреждения ДНК, что приводит к гибели клеток. При концентрациях около 30 мкг/мл цитотоксический эффект отсутствует, однако наблюдается торможение пролиферативного ответа за счет нарушения синтеза факторов роста, прежде всего интерлейкина (ИЛ)-2. При снижении дозы еще на 2 порядка (0,3 мкг/мл и ниже, обозначенные нами как ультранизкие концентрации) наблюдается усиление пролиферативного ответа за счет избирательного блокирования β -цепи рецептора для ИЛ-2. Последний конститутивно экспрессирован на лимфоцитах CD8+, которые при его блокировании теряют способность к активации. Такие "инактивированные" CD8+ лимфоциты не в состоянии экспрессировать *Fas*-лиганд, в результате чего механизм торможения пролиферативного ответа Т-хелперов (взаимодействие *Fas*-лиганда CD8+ лимфоцита с *Fas*-рецептором клетки CD4+) оказывается нарушенным [8,10].

Мы предположили, что использование алкилирующих агентов в ультранизких дозах может оказывать благоприятный эффект при лечении заболеваний, в патогенезе которых существенную роль играет хроническое воспаление слизистых оболочек. Это было продемонстрировано в процессе лечения тяжелой БА ингаляциями ультранизких доз алкилирующего препарата "мелфалан" [1,2].

Целью настоящего исследования явилось изучение динамики клинико-иммунологических параметров у больных тяжелой БА при лечении ингаляциями ультранизких доз мелфалана на фоне традиционной терапии.

Материалы и методы

В плацебо-контролируемое рандомизированное исследование были включены 42 пациента с тяжелой БА (22 мужчины, 20 женщины). Средний воз-

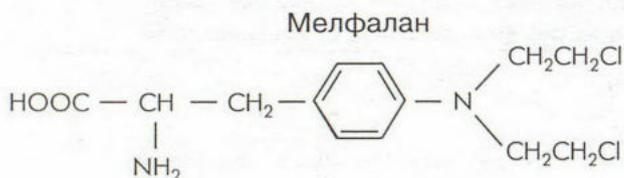


Рис.1. Химическое строение молекулы мелфалана.

раст пациентов составлял $56,4 \pm 16,9$ года. Средняя продолжительность заболевания составила 8,5 года. Курили 29% пациентов. У всех больных, участвующих в исследовании, исключался атопический генез развития заболевания. Все пациенты применяли высокие дозы ингаляционных глюкокортикостероидов (ГКС). Из 42 больных 31 (74%) получал постоянную поддерживающую терапию пероральными ГКС, а 11 (26%) — системные ГКС курсами. Все пациенты, включенные в исследование, подписывали Форму информированного согласия.

Больные случайным методом были разделены на 2 группы (21 человек в каждой). Всем пациентам основной группы на фоне стандартной терапии ежедневно в течение 5 дней проводили ингаляции ультранизких доз (0,1 мг) мелфалана (Алкеран®, "Glaxo Wellcome"), разведенного в 0,9% растворе NaCl. Пациенты контрольной группы помимо традиционной терапии получали ежедневные ингаляции плацебо (изотонический раствор NaCl) в течение 5 дней. Поддерживающая терапия после окончания курса лечения оставалась без изменений. Обследование больных проводилось до и через 5 дней после окончания курса ингаляционной терапии [2]. Клиническое состояние пациентов также оценивали через 3 мес после проведенного лечения.

Для оценки клинической эффективности проведенной терапии по ранее описанной 5-балльной методике [1,2] учитывали одышку, кашель, толерантность к физической нагрузке, частоту использования β_2 -агонистов, частоту и тяжесть обострений, а также субъективное самочувствие пациента. При этом минимальная выраженность признака принималась за 1, максимальная — за 5 баллов.

Функциональное состояние легких оценивали на основе анализа показателей механики внешнего дыхания методом компьютерной спирометрии на системе "SuperSpiro" ("MicroMedical", Великобритания), результаты выражались в процентах к должной величине. Анализировались следующие показатели: FVC, FEV₁, PEF, MEF₇₅, MEF₅₀ и MEF₂₅.

Фенотипирование лимфоцитов периферической крови проводили на лазерном проточном цитометре с одинарной меткой. Определяли уровни следующих CD-маркеров: CD3, CD4, CD8, CD20, CD25, CD16, CD95.

Фибробронхоскопию с забором бронхиального смыва (БС) проводили по общепринятой методике [3] под местной анестезией фибробронхоскопом BF-30 ("Olympus", Япония).

Исследование иммунологических маркеров воспаления проводили в БС и периферической крови. В образцах БС определяли содержание ИЛ-5, интерферона γ (ИФН- γ), фактора некроза опухолей α (ФНО α) и ИЛ-8. Для нивелирования влияния разведения бронхиального секрета при сборе БС содержание цитокинов в нем относили к уровню мочевины в образце, концентрацию которой во всех жидкостях

организма можно считать постоянной. В сыворотке крови определяли содержание ИЛ-4, ИЛ-5, ИФН- γ и ФНО α . Уровень цитокинов определяли с помощью коммерческих иммуноферментных наборов ("Cytimmune", США) на микропланшетном ридере ЭФОО9305 (Россия). Кроме того, оценивали интенсивность пролиферативного ответа на фитогемагглютинин (ФГА) и чувствительность лимфоцитов к антипролиферативному действию ГКС по ранее описанному методу [9]. Мононуклеарные лейкоциты выделяли из периферической крови больных методом градиентного центрифугирования. Клетки отмывали и помещали в культуральную среду. Конечная концентрация ФГА ("Sigma", США) составляла 5 мкг/мл. Для торможения пролиферативного ответа использовали дексаметазон ("Sigma", США) в различных концентрациях (10^{-10} – 10^{-6} М). В контрольные лунки дексаметазон не добавляли. Клетки инкубировали в течение 72 ч при 37°C во влажной атмосфере, содержащей 5% CO₂. Интенсивность пролиферации оценивали радиоизотопным методом. Результаты выражали в имп/мин, а степень торможения пролиферативного ответа — в виде средней активной дозы ED₅₀. Ранее была обнаружена прямая положительная корреляция между степенью торможения пролиферативного ответа лимфоцитов дексаметазоном и высотой ФГА-индуцированного пролиферативного ответа в данном опыте [9]. На основании этой корреляции был предложен метод оценки чувствительности к антипролиферативному действию ГКС путем определения величины Δ_h , которая вычислялась по формуле

$$\Delta_h = Y - Y',$$

где $Y = \log ED_{50}$; $Y' = 0,447X - 4,399$;
 $X = \ln(\text{имп/мин})$.

ГКС, подавляя синтез мРНК для ИЛ-2, оказывают тормозящее действие на пролиферацию лимфоидных клеток. При наличии воспалительного очага происходит постоянное рекрутирование лимфоцитов периферической крови. Клетки, поступая в очаг воспаления, активируются и частично возвращаются в кровотоки с завершённым синтезом мРНК для ИЛ-2, что делает их резистентными к антипролиферативному действию ГКС. Таким образом, параметр Δ_h отражает содержание активированных клеток среди лимфоцитов периферической крови. При нормальной чувствительности лимфоцитов к антипролиферативному действию ГКС величина Δ_h оказывается ниже нулевого уровня. Если величина Δ_h больше 0, больные классифицируются как стероидрезистентные. Лимфоциты большинства больных БА характеризуются как стероидрезистентные, однако степень резистентности может быть различной.

Полученные результаты сравнивали, используя t -критерий Стьюдента, а также с помощью непараметрического метода Вилкоксона.

Результаты

В результате динамического наблюдения в обеих группах отмечено уменьшение выраженности одышки, интенсивности кашля, частоты и тяжести приступов удушья непосредственно после лечения. Однако, как уже сообщалось ранее [2], у пациентов основной группы отмечен ряд положительных сдвигов, которых не наблюдали у больных контрольной группы. Через 3 мес после курса лечения динамика состояния больных основной и контрольной групп была различна: одышка больных контрольной группы усилилась, в то время как аналогичный показатель основной группы продолжал уменьшаться. Тolerантность к физической нагрузке также увеличилась в основной группе и снизилась в контрольной (рис.2).

Положительный эффект ингаляций ультратонких доз мелфалана подтвержден исследованием потоковых показателей функции внешнего дыхания (ФВД) (рис.3). На рис.3 видно, что у больных основной группы положительная динамика исследуемых показателей более выражена, чем у пациентов контрольной группы.

В периферической крови не обнаружено значимых изменений содержания лимфоцитов, экспрессирующих CD3, CD4, CD8, CD16, CD20 и CD25. В то же время было отмечено выраженное снижение количества клеток с фенотипом CD95+ (клеток, экспрессирующих *Fas*-рецептор). У больных, получавших плацебо, таких изменений мы не наблюдали (рис.4).

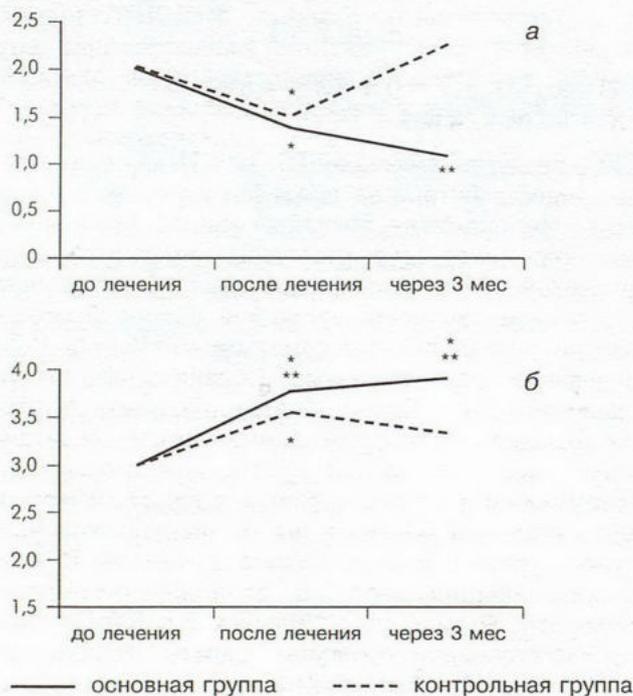


Рис.2. Динамика выраженности одышки (а) и толерантности к физической нагрузке (б) непосредственно после лечения и через 3 мес.

* — статистически значимые изменения, ** — различие контрольной и основной групп статистически значимо.

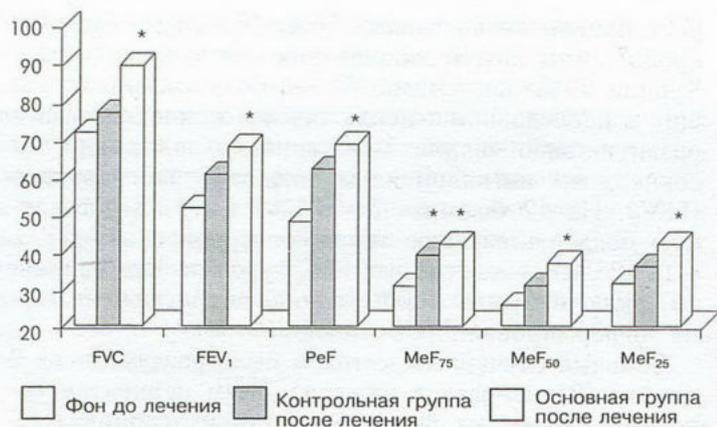


Рис.3. Показатели ФВД у больных основной и контрольной групп до и после лечения (% от должных показателей). Ввиду идентичности спирометрических показателей основной и контрольной групп до лечения данные представлены в виде общего фона.

* — статистически значимые изменения.

Отмечено также повышение чувствительности лимфоцитов к антипролиферативному действию ГКС, что выражалось в уменьшении величины показателя Δ_h . При этом у больных, получавших мелфалан, такое повышение было статистически значимым ($p=0,04$), свидетельствуя о снижении активации лимфоцитов периферической крови, а в контрольной группе наблюдалась лишь тенденция к повышению чувствительности (рис.4).

Приведенные результаты свидетельствуют о снижении содержания в периферической крови активированных лимфоцитов. У больных, которым проводилось

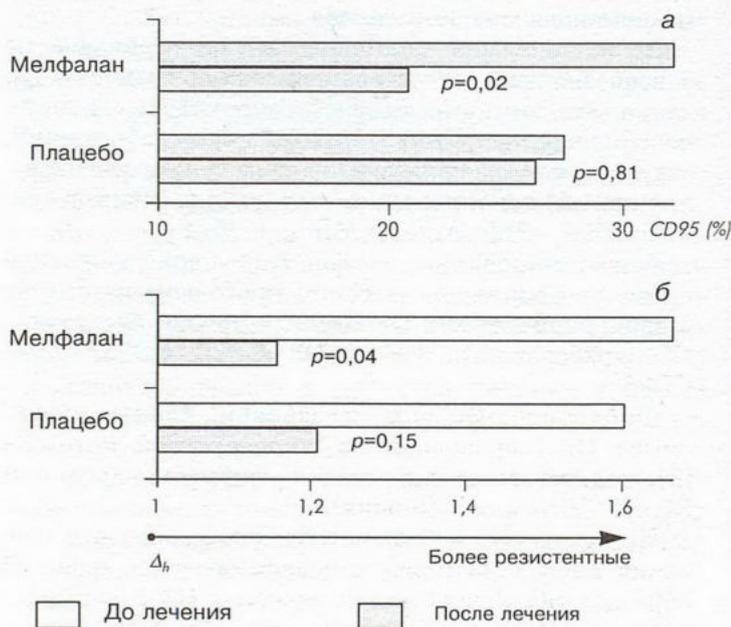


Рис.4. Содержание активированных лимфоцитов в периферической крови, в основной и контрольной группах; а — содержание в общем пуле лимфоцитов клеток с фенотипом CD95+; б — чувствительность лимфоцитов к антипролиферативному действию дексаметазона (более высокие значения показателя Δ_h соответствуют большей резистентности лимфоцитов).



Рис.5. Динамика содержания цитокинов в БС (в % к исходным величинам).

лечение ингаляциями ультранизких доз мелфалана, одновременно со снижением количества активированных лимфоцитов в периферической крови значимо повышался пролиферативный ответ на стимуляцию ФГА (с $31\ 955 \pm 4427$ до лечения до $49\ 803 \pm 7177$ имп/мин после лечения, $p=0,04$), при этом изменения в контрольной группе были статистически незначимы ($53\ 377 \pm 11\ 075$ и $34\ 240 \pm 4329$ имп/мин соответственно).

В образцах БС больных основной группы наблюдались характерные изменения в виде повышения уровня всех исследованных цитокинов (рис.5). У больных контрольной группы такого повышения мы не наблюдали.

В сыворотке крови больных, получавших мелфалан, имело место статистически значимое снижение содержания ИЛ-4 и ИЛ-5 (рис.6).

Уровень ИФН-γ также снижался, но эти изменения статистически недостоверны. В образцах сыворотки больных контрольной группы колебания уровня цитокинов носили стохастический характер и значимо не отличались от результатов измерений, проведенных перед началом лечения.

Обсуждение

Представленные результаты показывают, что короткий курс ингаляций ультранизких доз алкилирующих

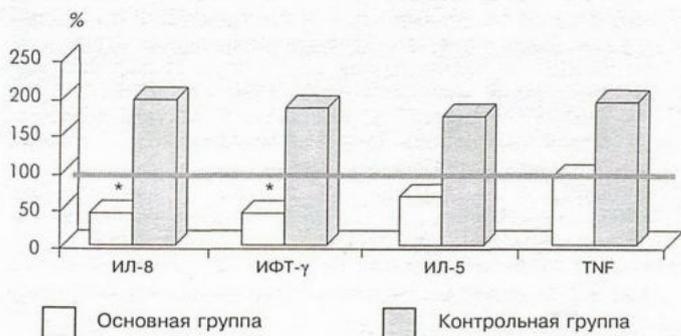


Рис.6. Динамика содержания цитокинов в сыворотке крови (в % к исходным величинам).

* — статистически значимые изменения.

щего цитостатика мелфалан, помимо положительного клинического воздействия на течение тяжелой БА, оказывает выраженное иммуномодулирующее действие, которое может быть зарегистрировано как *in situ* (повышение уровня цитокинов в БС), так и в виде системной реакции организма. Хотя повышение уровня цитокинов в образцах БС носит на первый взгляд неожиданный характер, эти изменения в полной мере соответствуют морфологическим изменениям, наблюдавшимся в бронхобиоптатах. Ранее было показано, что после лечения мелфаланом у 60% больных в той или иной степени отмечались регенераторные процессы в бронхиальном эпителии [1,2]. Таким образом, повышение содержания цитокинов в БС можно трактовать как косвенный признак процессов регенерации, протекающих в эпителии бронхов. Полученные результаты свидетельствуют о системном противовоспалительном эффекте, который оказывает лечение ультранизкими дозами мелфалана. В пользу этого свидетельствуют такие факты, как снижение в сыворотке уровня ряда цитокинов, а также уменьшение в крови содержания активированных лимфоцитов.

Ультранизкие дозы алкилирующих соединений способны блокировать рецептор для ИЛ-2, который конститутивно экспрессирован на CD8+ лимфоцитах. В экспериментах *in vitro* показано, что такие функционально неполноценные клетки теряют способность оказывать супрессивный эффект на CD4+ лимфоциты, следствием чего является более высокий уровень пролиферации в ответ на стимуляцию культуры Т-клеточными митогенами. Аналогичный эффект, по-видимому, имеет место и при введении ультранизких концентраций алкилирующих агентов *in vivo*. По нашим данным, у больных, получавших лечение ингаляциями ультранизких доз мелфалана, отмечалось заметное повышение пролиферативного ответа лимфоцитов на ФГА.

В целом положительный эффект терапии бронхиальной астмы ультранизкими дозами алкилирующего препарата "мелфалан" может быть представлен следующим образом. Известно, что процессы апоптоза, опосредованные *Fas*-рецептором, играют ведущую роль в регуляции пролиферации эпителия как в легких, так и в других органах (семенниках, тонком кишечнике и т.д.) [4,12]. Полагают, что экспрессия *Fas*-лиганда этими клетками защищает их от апоптотической гибели при инфильтрации ткани иммунными лимфоцитами, например в случае инфекции [6]. Хронический воспалительный процесс сопровождается усилением экспрессии *Fas*-рецептора и потерей клетками *Fas*-лиганда [5,7]. Подобные изменения должны, с одной стороны, способствовать накоплению иммунных клеток и развитию хронического воспаления, а с другой — провоцировать клеточную гибель и усиливать фиброз. Можно думать, что ультранизкие дозы алкилирующих соединений могут одновременно снижать активность клеток-эффекторов и защищать эпителиальные клетки от повреждения

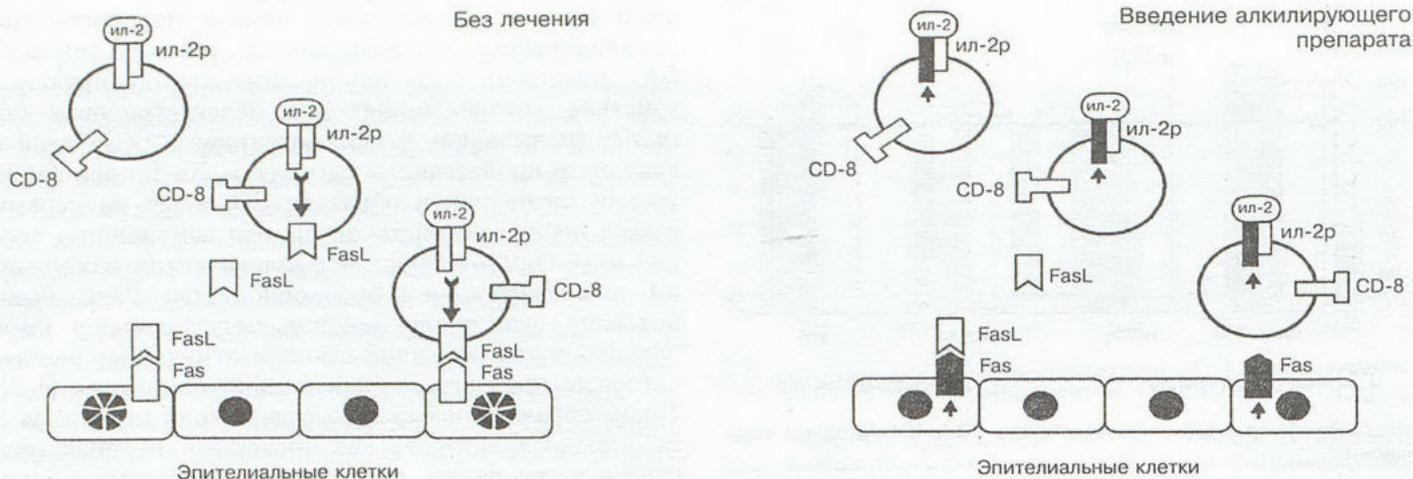


Рис.7 Гипотетический механизм действия алкилирующего агента в очаге воспаления.

путем блокирования передачи сигнала через ИЛ-2 и *Fas*-рецепторы соответственно в CD8+ лимфоцитах и эпителиальных клетках.

На схеме представлен гипотетический механизм действия алкилирующих препаратов. CD8+ лимфоциты, активированные в очаге воспаления за счет присоединения свободного ИЛ-2 к ИЛ-2-рецептору, продуцируют *Fas*-лиганд, который в свою очередь присоединяется к *Fas*-рецептору на поверхности эпителиальных клеток, запуская в них апоптотический каскад. Ультранизкие дозы алкилирующего препарата (на рис.7 показаны черными стрелками) инактивируют как β -цепь рецептора для ИЛ-2 на лимфоцитах CD8+, так и *Fas*-рецептор на поверхности эпителиальных клеток (на рис.7 инактивированные рецепторы закрашены черным), т.е. ультранизкие концентрации алкилирующего препарата, не влияя на жизнеспособность эпителиальных клеток, нарушают передачу сигнала *Fas*-рецептором и/или рецептором для ИЛ-2.

Таким образом, ультранизкие нецитотоксические концентрации алкилирующих агентов могут блокировать по крайней мере 2 звена патогенеза хронического воспаления при БА, что создает условия для регенерации эпителия. Авторами настоящего исследования признаки такой регенерации зафиксированы как методами патоморфологии [1,2], так и в виде признаков повышения функциональной активности клеток эпителия бронхов.

Выводы

1. Ингаляции ультранизких доз алкилирующего цитостатика мелфалана не оказывают цитопатогенного действия ни в отношении клеток бронхиального эпителия, ни в отношении клеток крови.
2. У больных тяжелой бронхиальной астмой ингаляции ультранизких доз мелфалана оказывают выраженное иммуномодулирующее и противовоспалительное действие, которое может быть зафиксировано как *in situ*, так и на системном уровне.

3. Полученные результаты исследования дают основание для разработки принципиально новых подходов в лечении ультранизкими дозами алкилирующих цитостатиков, учитывая их иммуномодулирующий и противовоспалительный механизм действия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зыков К.А. Морфофункциональная оценка эффективности лечения эндогенной бронхиальной астмы ингаляциями ультранизких доз мелфалана: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 2000.
2. Соколов Е.И., Зыков К.А., Пухальский А.Л. и др. Ингаляции ультранизких доз алкилирующих препаратов в лечении бронхиальной астмы. Пульмонология 2002; 3: 82–88.
3. BTS Bronchoscopy Guidelines Committee. British Thoracic Society guidelines on diagnostic flexible bronchoscopy. Thorax 2001; 56 (suppl.1): i1–i21.
4. Fine A., Anderson N.L., Rothstein T.L. et al. Fas expression in pulmonary alveolar type II cells. Am. J. Physiol. 1997; 273 (Lung Cell Mol. Physiol. 17): L64–L71.
5. Gochuico B.R., Miranda K.M., Hessel I.M. et al. Airway epithelial Fas ligand expression: potential role in modulating bronchial inflammation. Am. J. Physiol. 1998; 274 (Lung Cell Mol. Physiol. 18): L444–L449.
6. Griffith T.S., Brunner T., Fletcher S.M. et al. Fas ligand-induced apoptosis as a mechanism of immune privilege. Science 1995; 270: 1189–1192.
7. Kuwano K., Miyazaki H., Hagimoto N. et al. The involvement of Fas-Fas ligand pathway in fibrosing lung diseases. Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol. 1999; 20: 53–60.
8. Pukhalsky A.L., Kalashnikova E.A., Lyashko V.N., Pevnitsky L.A. Inhibition of phytohemagglutinin-induced lymphocyte proliferation by dexamethasone: mechanisms of individual susceptibility. Int. J. Immunopharmacol. 1990; 12: 657–663.
9. Pukhalsky A., Toptygina A., Khaidukov S. Interleukin-2 receptor β chain as a possible target for low doses of mafosfamide. Mediators Inflamm. 1995; 4: 175–180.
10. Pukhalsky A.L., Shmarina G.V. Stimulatory and protective effects of alkylating agent applied in ultra-low concentrations. Pharmacology 2001; 62: 129–132.
11. U.S. pharmacopeial convention drug information — United States pharmacopeial convention. Updated: March 1997. New York; 1997; vol I.
12. Woolveridge I., de Boer Brouwer M., Taylor M.F. et al. Apoptosis in the rat spermatogenic epithelium following androgen withdrawal: changes in apoptosis-related genes. Biol. Reprod. 1999; 60: 461–470.

Поступила 06.11.02