

14. Church M.K., Young K.D. The characteristics of inhibition of histamine release from human lung fragments by sodium cromoglycate, salbutamol and chlorpromazine // Br. J. Pharmacol.— 1983.— Vol.78, № 4.— P.671—769.
15. Cochrane G.M. Bronchial asthma and the role of β_2 -agonists // Lung.— 1990.— Vol.168, Suppl.— P.66—70.
16. Cockcroft D.W., Murdock K.Y. Comparative effects of inhaled selbutamol, sodium cromoglycate, and beclomethasone dipropionate on allergen-induced early asthmatic responses, late asthmatic responses and increased bronchial responsiveness to histamine // J. Allergy Clin. Immunol.— 1987.— Vol.79, №5.— P.734—740.
17. Derom E.Y., Pauwels R., Van der Straeten M. The effect of inhaled salmeterol on methacholine responsiveness in subjects with asthma up to 12 hours // Ibid.— 1992.— Vol.89.— P.811—815.
18. Holgate S.T., Kay A.B. Mast cells, mediators and asthma // Clin.Allergy. - 1985.— Vol.15, № 3.— P.221—234.
19. Juniper E.F., Cockcroft D.W., Hargreave F.E. Histamine and Methacholine Inhalation Tests: Tidal Breathing Method (Laboratory Procedure and Standardisation. AB Draco) — Lund, 1991.
20. Kerrebijn K.F., Van Essen-Zandvliet E.E.M., Neijens H.J. Effect of long-term treatment with inhaled corticosteroids and β -agonists on the bronchial responsiveness in children with asthma // J.Allergy Clin.Immunol.— 1987.— Vol.79.— P.653—659.
21. Kraan J., Koeter G.H., Van der Mark T.W., Sluiter H.J., de Vries K. Changes in bronchial hyperreactivity induced by 4 weeks of treatment with antiasthmatic drugs in patients with allergic asthma: a comparison between budesonide and terbutaline // Ibid.— 1985.— Vol.76.— P.628—636.
22. Malo J.I., Cartier A., Ghezzi H., Trudeau C., L'Archeveque J. Duree de l'effet bronchoprotecteur du salmeterol dans l'asthme induit par l'hyperventilation d'air froid sec // Rev.Mal.Respir.— 1992.— Vol.9.— P.R19—R21.
23. Quanjer Ph.H., Tammeling G.I., Cotes J.E., Pedersen O.F., Peslin R. Lung volumes and ventilatory flows // Eur.Respir.J.— 1993.— Vol.6.— P.4—40.
24. Sterk P.J., Fabbri L.M., Quanjer Ph.H., Cockcroft D.W., O'Byrne P.M., Anderson S.D., Juniper E.F., Malo J.-L. Airway responsiveness // Ibid.— Suppl.6.— P.55—64.
25. Thom T.I. International Comparisons in COPD Mortality // Am. Rev. Respir. Dis.— 1989.— Vol.140, № 3.— P.27—34.
26. Twentymen O.P., Finnerty J.P., Harris A. et al. Protection against allergen-induced asthma by salmeterol // Lancet.— 1990.— Vol.336, № 8727.— P.1338—1342.
27. Urbanek R. Allergy and asthma // Lung.— 1990.— Vol.168, Suppl.— P.263—267.
28. Van Bever H.P., Desage K.M., Stevena W.I. The effect of inhaled fenoterol, administered during the late asthmatic reaction to house dust mite // J. Allergy Clin. Immunol.— 1990.— Vol.85, № 4.— P.700—703.
29. Viegi G., Paoletti P., Prediletto R. et al. Prevalence of respiratory symptoms in an unpolluted area of Northern Italy // Eur. Respir. J.— 1988.— Vol.1.— P.311—318.
30. Williams I.P., Phipps R.J., Wright N.I. et al. Sympathomimetic agonists stimulate mucus secretion into human bronchi // Thorax.— 1981.— Vol.36, № 3.— P.231.
31. Ziment J. Risk/benefit ratio of long-term treatment with β_2 -adrenoceptor agonists // Lung.— 1990.— Vol.168, Suppl.— P.168—176.

Поступила 25.09.95

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1996

УДК [616.24—002.27+616.24—002.282]—07:616—008.93—074

А.Х.Коган, Е.Н.Попова, С.Болевич, Б.М.Корнев, Е.А.Коган, Н.А.Мухин

ГЕНЕРАЦИЯ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА ЛЕЙКОЦИТАМИ КРОВИ И АЛЬВЕОЛЯРНЫМИ МАКРОФАГАМИ, СОДЕРЖАНИЕ ПРОДУКТА ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ МАЛОНОВОГО ДИАЛЬДЕГИДА И АНТИПЕРЕКИСНАЯ ЗАЩИТА ПРИ САРКОИДОЗЕ И ИДИОПАТИЧЕСКОМ ФИБРОЗИРУЮЩЕМ АЛЬВЕОЛИТЕ

Кафедра патологической физиологии, кафедра терапии и профзаболеваний,
кафедра патологической анатомии 1-го лечебного факультета ММА им.И.М.Сеченова

REACTIVE OXYGEN SPECIES GENERATION IN ALVEOLAR MACROPHAGES AND BLOOD LEUKOCYTES, CONCENTRATION OF LIPID PEROXIDATION PRODUCT, MALONIC ALDEHYD, AND ANTIPEROXIDE ACTIVITY OF SERUM DURING SARCOIDOSIS AND IDIOPATHIC FIBROSING ALVEOLITIS

A.H.Kogan, E.N.Popova, C.Bolevich, B.M.Kornev, E.A.Kogan, N.A.Mukhin

S u m m a r y

Reactive oxygen species generation (ROSG) in alveolar macrophages and blood leukocytes was studied in 20 patients with sarcoidosis, 15 ones with idiopathic fibrosing alveolitis (IFA), and 20 healthy volunteers by the luminol dependent chemiluminescence method. The lipid peroxidation state was estimated relatively to malonic dialdehyde concentration. The antiperoxide activity of serum (SAA) was studied relatively to the lipid peroxidation stability to initiation by hydroperoxide. Pulmonary biopates from the patients were studied by electronic microscopy and the immunohistochemical method. During sarcoidosis exacerbation phase and early stages of IFA, the significant increase in ROSG was noted in blood leukocytes as well as in alveolar macrophages in comparison with controls

($p < 0.01$, $p < 0.05$ respectively). During the sarcoidosis remission period and the "honeycombal lungs" stage of IFA, ROSG parameters decreased down to the control level. Nosological features of IFA, that differ it from sarcoidosis, were based on the increasing of lipid peroxidation parameters at the background of ROSG decrease. On the contrary, there were noted coupled parallel fluctuations of ROSG and lipid peroxidation processes in sarcoidosis. During IFA, alveolar macrophages were characterised by greater ROSG parameters, the monocytoid type of differentiation, and the high synthesis activity, that was shown during electron microscopy and immunohistochemistry. The ROSG enforcement conditioned the necessity to include antioxidants into the sarcoidosis and IFA therapy.

Резюме

Исследовали генерацию активных форм кислорода (АФК) альвеолярными макрофагами и лейкоцитами крови у 20 больных саркоидозом, 15 идиопатическим фиброзирующим альвеолитом (ИФА) и 20 добровольцев с использованием метода люминолзависимой хемилюминесценции. Состояние перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по содержанию малонового диальдегида (МДА). Антиперекисную активность плазмы (АПА) исследовали по устойчивости к иницированию ПОЛ перекисью водорода. Биоптаты легкого от данных больных исследовали методами электронной микроскопии и иммуногистохимии. В фазе обострения саркоидоза и на ранних стадиях ИФА отмечалось достоверное по сравнению с контролем ($p < 0,01$) увеличение показателей генерации АФК как лейкоцитами крови, так и альвеолярными макрофагами ($p < 0,05$). В период ремиссии саркоидоза и при ИФА в стадии "сотового легкого" показатели генерации АФК снижались до контрольного уровня. Нозологическое своеобразие ИФА, отличающее его от саркоидоза, заключалось в нарастании показателей ПОЛ на фоне снижения генерации АФК, тогда как при саркоидозе отмечается однонаправленные параллельные колебания генерации АФК и процессов ПОЛ. Альвеолярные макрофаги при ИФА отличаются более высокими показателями генерации АФК, моноцитоподобным типом дифференцировки и высокой синтетической активностью, что было показано при электронной микроскопии и иммуногистохимии. Усиление генерации АФК обуславливает необходимость включения антиоксидантов в терапию саркоидоза и ИФА.

В последние годы внимание исследователей привлекают супероксидный анион-радикал и его производные ($\text{OH}^\cdot$, $\text{O}_2^\cdot$, H_2O_2), образующие активные формы кислорода (АФК), являющиеся медиаторами воспаления и повреждения. Сравнительно хорошо изучена роль АФК в патогенезе бронхиальной астмы [1,2], язвенной болезни [8], ишемической болезни и инфаркта миокарда [7]. Имеются сведения об участии свободно-радикальных процессов в развитии интерстициальных болезней легких (ИБЛ), установлено усиление генерации АФК при пневмокониозах [5] и экзогенных аллергических альвеолитах [19]. Вместе с тем при саркоидозе и идиопатическом фиброзирующем альвеолите (ИФА) эти данные немногочисленны [24,27], отсутствуют клинко-морфологические сопоставления. Восполнению этого пробела в определенной мере и посвящено данное исследование.

Саркоидоз и ИФА относятся к ИБЛ с неизвестной этиологией и характеризуются хроническим поражением легочного интерстиция с развитием альвеолита, как правило, в начале заболевания и интерстициального фиброза в финале, приводящего к формированию "сотового легкого". Наряду с общими стереотипными изменениями, саркоидоз и ИФА имеют кардинальные различия по иммунопатогенезу, характеру воспаления и выраженности пневмофиброза [13,15,18]. При саркоидозе отмечаются реакции гиперчувствительности замедленного типа, в легких выявляется продуктивное воспаление с образованием гранулем (рис.1), интерстициальный фиброз выражен незначительно, дыхательная недостаточность прогрессирует медленно, а может и совсем отсутствовать.

ИФА отличается от саркоидоза диффузным характером воспалительного инфильтрата в легких (рис.2), фатальным нарастанием дыхательной недостаточности, быстрым прогрессированием пневмофиброза и относительно частым развитием рака легкого — в 12,5 %, (Turner-Warwick, 1986). В отличие от саркоидоза при ИФА развиваются реакции гиперчувствительности немед-

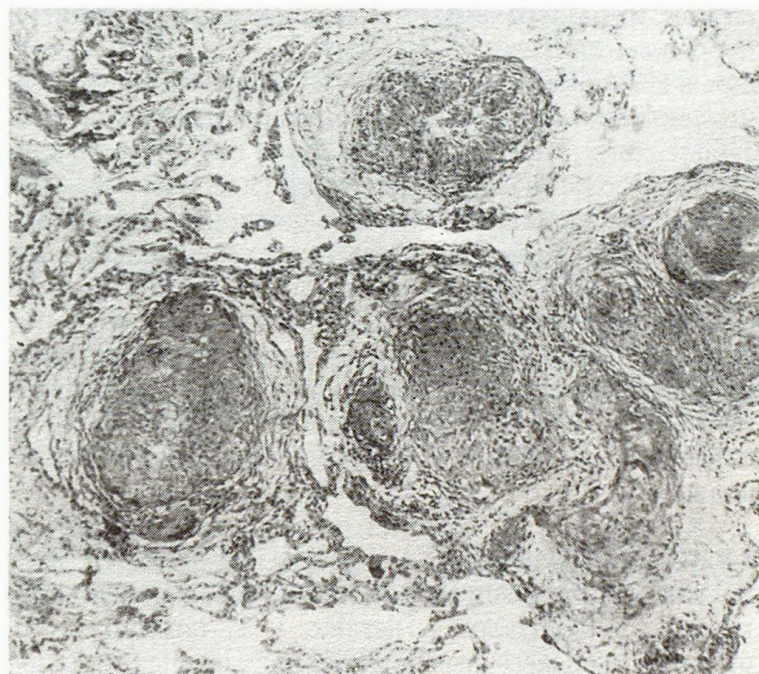


Рис.1. Саркоидоз легких. Саркоидные гранулемы и очаговый склероз интерстиция. $\times 100$. Окраска гематоксилином и эозином.

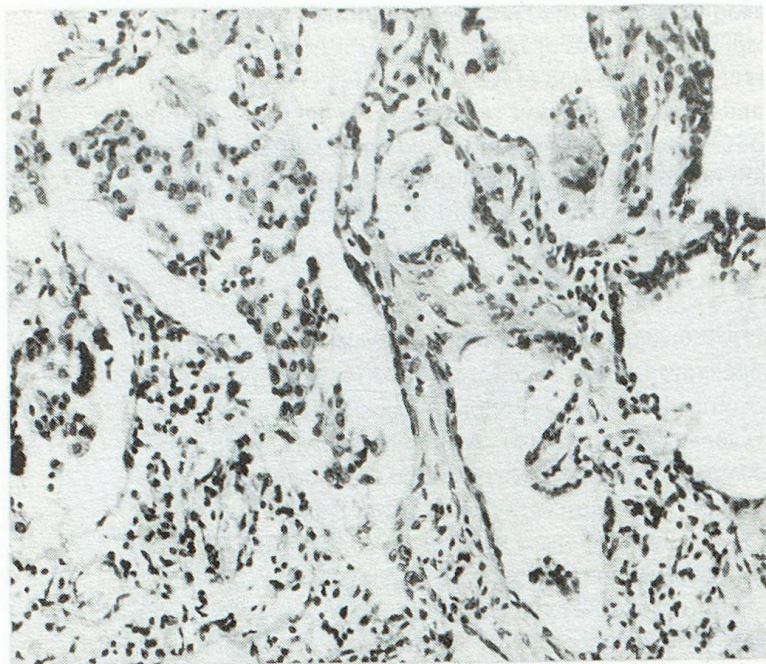


Рис.2. Идиопатический фиброзирующий альвеолит. Диффузный склероз и лимфогистиоцитарная инфильтрация интерстиция. $\times 250$. Окраска гематоксилином и эозином.

ленного типа и иммунокомплексное воспаление [22]. При саркоидозе и ИФА описаны различные нарушения функциональной активности клеток альвеолярной перегородки [13,15]. Особое значение в патогенезе саркоидоза и ИФА придается альвеолярному макрофагу. Помимо различных цитокинов и факторов роста, альвеолярные макрофаги генерируют повреждающие агенты (АФК, протеазы), участвуя тем самым как в повреждении, так и склерозировании легочной паренхимы [13,15,18,27,28].

Известно, что степень выраженности фиброза в легком находится в прямой зависимости от степени повреждения легких [15]. Следовательно, при саркоидозе и ИФА имеются особенности повреждения легочного интерстиция, что определяет различный исход этих заболеваний. Учитывая своеобразие патогенеза и клинико-морфологических проявлений саркоидоза и ИФА, можно предположить, что альвеолярные макрофаги отличаются в генерации АФК при этих заболеваниях.

Для проверки этого предположения мы провели исследование, цель которого — сравнительное изучение генерации АФК лейкоцитами крови и альвеолярными макрофагами, состояние перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиперекисной активности (АПА) у больных саркоидозом и ИФА в зависимости от фазы заболевания.

Обследовано 40 больных саркоидозом и ИФА (22 женщины и 18 мужчин) в возрасте 22—56 лет. У всех больных саркоидозом (25) выявлены поражения внутригрудных лимфоузлов в легких, у 7, помимо этого, отмечались внелегочные проявления (саркоидные гранулемы в печени). У 15 больных саркоидозом диагностирована дыхательная недостаточность: I степени — у 10 больных, II степени — у 5. У 5 больных исследование функции внешнего дыхания не показало

отклонений от должных величин. Все больные саркоидозом перорально получали преднизолон в максимальной дозе 40 мг с последующим постепенным снижением дозы вплоть до полной отмены препарата. 4 больных получали дополнительно препараты 4-аминохинолинового ряда (делагил — 2 таблетки в сутки).

У 15 больных с ИФА отмечалась дыхательная недостаточность II (у 8), III степени (у 7). Всем больным на протяжении месяца проводили монотерапию стероидами из расчета 1 мг на 1 кг массы с последующим снижением дозы до 20 мг/сут. В некоторых случаях применяли сочетание стероидов и цитостатиков (азатиоприн в дозе 100 мг через день) на протяжении всего периода наблюдения.

Некоторым больным (5 с ИФА, 2 саркоидозом) проводили сеансы гемосорбции (сорбент СКН 1, аппарат ПФ-05).

Контрольную группу исследования лейкоцитов крови составили 20 здоровых доноров. Условным контролем при исследовании альвеолярных макрофагов служила группа сравнения, состоявшая из лиц, которым в связи с подозрением на заболевание легких проведены бронхоскопия и бронхоальвеолярный лаваж, однако патологических изменений не было выявлено.

Диагноз саркоидоза и ИФА устанавливали на основании общепринятых критериев [3,4,26]. Проводили комплексное клиничко-лабораторное обследование, включавшее рентгенологическое исследование грудной клетки и томографию, сканирование легких с изотопом галлий-67, определение в периферической крови иммуноглобулинов, циркулирующих иммунных комплексов, титра комплемента, ангиотензинконвертирующего фермента, бронхоскопию и бронхоальвеолярный лаваж. Морфологическую верификацию диагноза проводили 25 больным на основании материалов трансбронхиальных и открытых биопсий легкого методами световой, электронной микроскопии и иммуногистохимии.

Лейкоциты из венозной крови выделяли по методике, описанной А.Х.Коганом [6]. Генерацию АФК лейкоцитами (фагоцитами: грануло- и моноцитами) исследовали люминолзависимым хемилюминесцентным методом [9—12,14,21,23,25,26]. Метод основан на потенцировании люминолом (5-амино-2,3-дигидро-1,4-фталезиндион) спонтанной хемилюминесценции (ХЛ) лейкоцитов; обусловлено это тем, что люминол [10,25] легко вступает в взаимодействие с АФК, в результате чего образуются электронно-возбужденные производные (ионы аминфталата и радикалы), являющиеся мощными эмиттерами свечения. Подтверждением того, что люминолзависимая ХЛ действительно отражает генерацию АФК, являются опыты, в которых показано, что супероксиддисмутаза (10 мкг/мл) и каталаза (100 мг/мл) инактивирующие супероксид (O_2^-) и H_2O_2 , ингибируют базальную люминолзависимую ХЛ в покое (соответственно на 80—100%) [11] и в меньшей степени при фагоцитозе [25]. Сходное действие оказывают эти ферменты на ХЛ лейкоцитов в отсутствие люминола [26].

Определяли базальную ХЛ лейкоцитов и макрофагов в покое (вне фагоцитоза) и стимулированную ХЛ лейкоцитов корпускулярными частицами SiO_2 .

Для определения методом люминолзависимой ХЛ генерации АФК выделяли общую лейкоцитарную массу (грануло-, моно-, лимфоциты) из гепаринизированной крови посредством отстаивания крови в течение 1,5—2 ч. при 24°C и последовательно центрифугировали при 500 и 1000 об/мин (60—200 q) в течение 5 и 10 мин. Присутствие лимфоцитов в лейкоцитарной массе не мешало определению АФК фагоцитами (грануло- и моноцитами), так как они практически не хемилюминесцируют [5,9] и не фагоцитируют. Лейкоцитарную массу освобождали от примесей эритроцитов путем осмозиса дистиллированной водой (5—10 с) и отмывали 0,85% раствором NaCl pH 7,35. Остаток лейкоцитов, полученный после центрифугирования, ресуспендировали в 1—1,5 мл забуференного изотонического (физиологического) раствора хлорида натрия (ЗФР), состоявшего из изотонического раствора хлорида натрия и фосфатно-щелочного буфера pH 7,35 в соотношении 7,5:2,5. Подсчитывали в камере Горяева число лейкоцитов (грануло- и моноцитов вместе и отдельно мононуклеаров) и доводили концентрацию их до стандартной — 2500 в 1 мкл. В кювету с 0,2 мл взвеси лейкоцитов добавляли 20 мл насыщенного изоосмолярного водного раствора люминола pH 7,35 (концентрация люминола в насыщенном растворе составляла 100 ммоль/мл), помещали кювету в люминометр ЛКБ (Швеция) и измеряли ХЛ до выхода на первый максимум-плато (базальный уровень), после чего добавляли 0,1 мл 1% взвеси SiO₂ на ЗФР (размер частиц SiO₂ колебался в пределах 4-15 мк) и продолжали измерение ХЛ до выхода на второй максимум-плато (стимулированный уровень). Альвеолярные макрофаги выделяли из бронхоальвеолярной лаважной жидкости по модифицированной методике, описанной С. Ward [27]. Бронхоальвеолярную лаважную жидкость фильтровали для отделения слизи, последовательно центрифугировали при 500 об/мин для осаждения эритроцитов и при 1000 об/мин для осаждения гранулоцитов. Образовавшийся супернатант центрифугировали при 1500 об/мин. Полученный осадок состоял

из альвеолярных макрофагов, которые ресуспендировали в ЗФР, pH 7,38. Подсчитывали концентрацию клеток в камере Горяева с использованием дополнительной окраски по Самсону [18] и доводили ее до 2500 в 1 мкл. Далее измеряли базальный и стимулированный уровни люминолзависимой ХЛ в 0,2 мл взвеси макрофагов по технике, описанной выше для лейкоцитов. После измерения базальной и стимулированной ХЛ уровень ее рассчитывали как показатели интенсивности ХЛ [6—8], базальные и стимулированные (ПИХЛб и ПИХЛс) на стандартное число лейкоцитов или макрофагов [10] по формуле:

$$\text{ПИХЛ б или ПИХЛ с} = \frac{\text{Максимум ХЛ 0,2 мл лейкомаcсы в } \mu\text{В/с}}{N \text{ грануло- и моноцитов в 0,2 мл лейкомаcсы}} \cdot 10^6$$

Кроме того, рассчитывали коэффициент активации ХЛ при стимуляции SiO₂ лейкоцитов и макрофагов как отношение ПИХЛс к ПИХЛб.

Интенсивность ПОЛ оценивали по содержанию в плазме малонового диальдегида (МДА), определяемого по методике I. Douset [17,20]. Сущность реакции заключается во взаимодействии тиобарбитуровой кислоты с плазмой и последующим добавлением Н-бутанола для экстракции окрашенного тиобарбитуровой кислотой продукта. Оптическую плотность измеряли по спектрофотометрической длине волны 532 нм, концентрацию МДА рассчитывали по формуле:

$$C = \frac{D \times 10 \times p}{1,56}, \text{ где}$$

D — оптическая плотность, p — степень разведения, 1,56 — поправочный коэффициент для выражения конечного результата (в мкМ на 1 л плазмы).

АПА плазмы определяли ХЛ-методом (без добавления люминола) по устойчивости ее (объем плазмы 2 мл) к иницированию перекисью водорода (5 капель 3% H₂O₂) свободнорадикального перекисного окисления; при этом определяли максимум ХЛ и рассчитывали отношение индуцированной к спонтанной ХЛ, по которому судили об АПА.

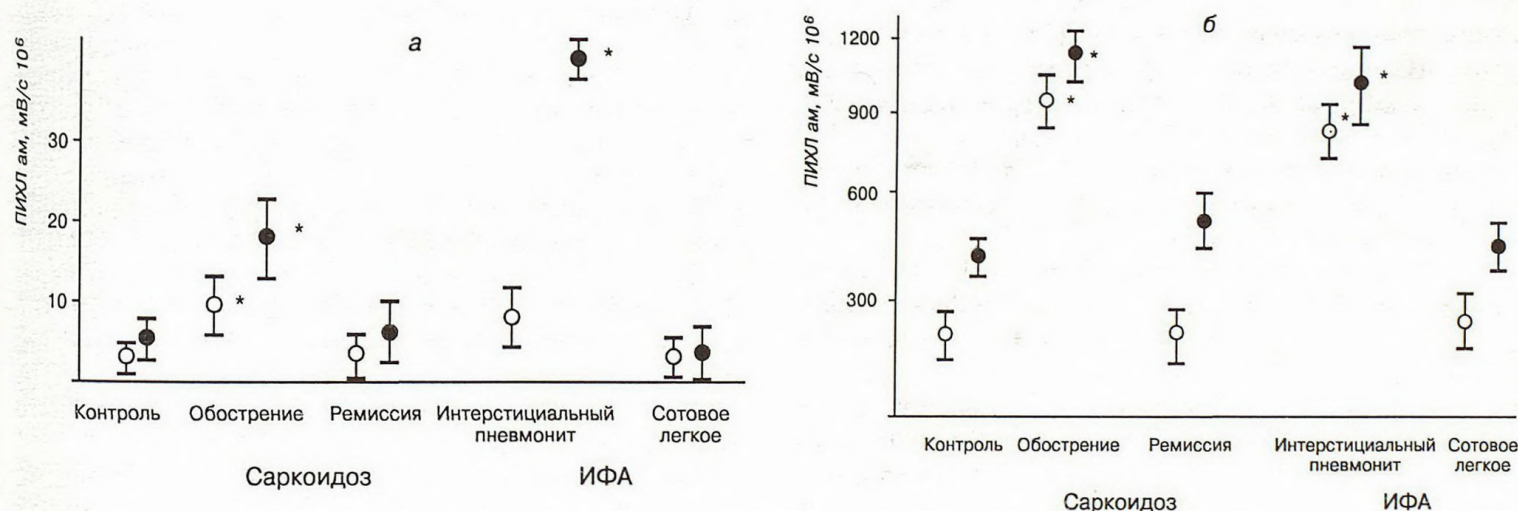


Рис.3. Показатели интенсивности ХЛ альвеолярных макрофагов (а) и лейкоцитов (б) периферической крови у больных саркоидозом и ИФА.

На осях ординат — ПИХЛ альвеолярных макрофагов и лейкоцитов соответственно, мВ/с × 10⁶. Светлый кружок — ПИХЛб, темный — ПИХЛс, * — p < 0,05 по отношению к контролю.

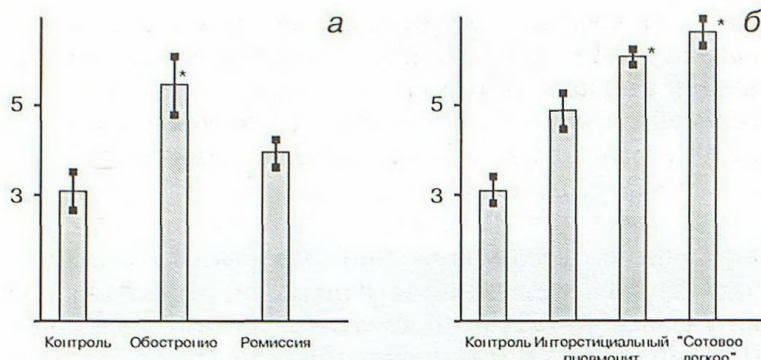


Рис.4. Динамика содержания малонового диальдегида в плазме крови больных саркоидозом (а) и ИФА (б).

На осях ординат — концентрация, $\mu\text{M}/\text{l}$. * — $p < 0,05$ по отношению к контролю.

Полученные данные свидетельствуют, что изученные формы ИБЛ — саркоидоз и ИФА — характеризуются на высоте развития нарастанием генерации АФК альвеолярными макрофагами (т.е. в регионе локализации патологического процесса) и фагоцитами крови (т.е. на расстоянии от *locus morbi*).

Сравнение ПИХЛ альвеолярных макрофагов и лейкоцитов крови показывает, что мощность генерации АФК альвеолярными макрофагами уступает генерации АФК лейкоцитами крови (по ПИХЛб в 182 раза, по ПИХЛс в 100 раз; $p < 0,001$). Однако относительная степень усиления ПИХЛб и ПИХЛс у альвеолярных макрофагов выше, чем у лейкоцитов; то же относится к коэффициенту активации (отношение ПИХЛб к ПИХЛс). Указанное относительное нарастание показателей генерации АФК альвеолярными макрофагами, возможно, связано с местной их активацией на территории бронхов и легких медиаторами воспаления, в частности фактором некроза опухолей и фактором активации тромбоцитов [24,29]. Экспериментальные исследования показали, что дозозависимая инстиляция фактора активации тромбоцитов в дыхательные пути мышей вызывает уже через несколько часов начало развития легочного фиброза. При этом отмечается значительное повышение функциональной активности альвеолярных и интерстициальных макрофагов, что выражалось в увеличении числа псевдоподий, усилении фагоцитоза и дегрануляции [20]. Показано, что фактор некроза опухолей усиливает экспрессию адгезивных молекул (ICAM) на мембранах эндотелиальных клеток, облегчая тем самым миграцию фагоцитов в очаг воспаления [16].

Все больные саркоидозом обследованы в стадии обострения заболевания, которая характеризовалась прогрессированием рентгенологических изменений в виде усиления интерстициального рисунка и увеличения внутригрудных лимфоузлов, повышением уровня сывороточной ангиотензинконвертазы, лимфоцитозом и увеличением процентного содержания двуядерных макрофагов в эндопульмональной цитогамме. При морфологическом исследовании выявлялись характерные эпителиоидно-клеточные гранулемы при минимально выраженном альвеолите.

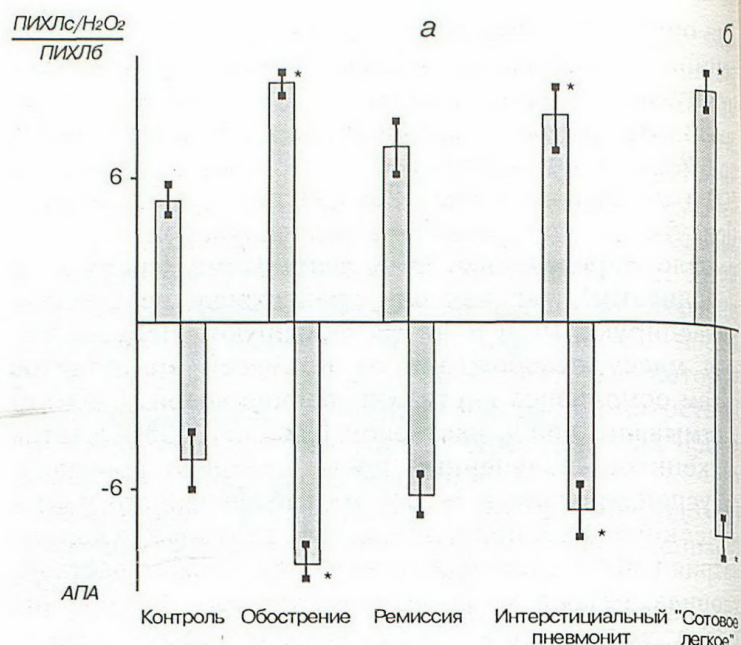


Рис.5. Отношение ПИХЛ плазмы, стимулированной H_2O_2 , к ПИХЛб плазмы и АПА у больных саркоидозом (а) и ИФА (б).

* — $p < 0,05$ по отношению к контролю.

ХЛ-исследование генерации АФК лейкоцитами крови и альвеолярными макрофагами показало, что у больных саркоидозом в фазе обострения по сравнению с контролем увеличиваются оба показателя генерации АФК как лейкоцитами (ПИХЛб в 3,3 раза, $p < 0,001$; ПИХЛс в 2,3 раза, $p < 0,01$), так и альвеолярными макрофагами (ПИХЛб в 3,8 раза, $p < 0,001$; ПИХЛс в 4,1 раза, $p < 0,001$) — рис.3.

Исследование интенсивности ПОЛ при саркоидозе показало, что в период высокой активности саркоидозного альвеолита увеличивается содержание МДА в плазме (от $2,53 \pm 0,3$ $\mu\text{M}/\text{l}$ в контроле до $4,62 \pm 0,50$ $\mu\text{M}/\text{l}$, $p < 0,05$) (рис.4). Одновременно увеличивается отношение индуцированной перекисью водорода к спонтанной ХЛ плазмы (от $6,8 \pm 0,6$ в контроле до $11,6 \pm 0,7$; $p < 0,01$), что свидетельствует о снижении АПА у этих больных (рис.5).

Период ремиссии саркоидоза характеризуется улучшением рентгенологической картины, снижением уровня ангиотензинконвертирующего фермента, уменьшением числа лимфоцитов и двуядерных макрофагов в бронхоальвеолярной лаважной жидкости. Показатели генерации АФК снижаются и достоверно не отличаются от контрольных величин (см.рис.3.) Одновременно снижается содержание МДА (от $4,62 \pm 0,5$ до $3,04 \pm 0,01$ $\mu\text{M}/\text{l}$; $p < 0,05$) и отношение индуцированной перекисью водорода ХЛ плазмы к спонтанной ($11,46 \pm 0,7$ в период обострения до $7,85 \pm 0,8$ в период ремиссии; $p < 0,05$), что свидетельствует об увеличении АПА плазмы у больных в период стихания саркоидозного альвеолита¹ (см.рис.5).

При исследовании генерации АФК альвеолярными макрофагами и лейкоцитами крови у больных с ранней стадией ИФА также, как и при саркоидозе, отмечалось увеличение ПИХЛб и ПИХЛс как для лейкоцитов (ПИХЛб в 2,8 раза, $p < 0,001$; ПИХЛс в 1,68

раза, $p < 0,001$), так и для альвеолярных макрофагов (ПИХЛб в 3,7 раза, $p < 0,001$; ПИХЛс в 10,9 раза, $p < 0,001$) — см.рис.3.

Помимо имеющейся при ИФА и саркоидозе общей тенденции к повышению генерации АФК, выявлены нозологические особенности ИФА, отличающие его от саркоидоза. Так, уровень ПИХЛс альвеолярных макрофагов был достоверно выше при ИФА, чем при обострении саркоидоза (в 2,8 раза; $p < 0,001$). Эти данные коррелировали с морфологическими изменениями, которые были обнаружены при исследовании биоптатов легкого у данных больных. Более высокий уровень генерации АФК сопровождался более выраженными повреждениями легочной паренхимы и ранними склеротическими изменениями в области аэрогематического барьера.

Поздняя стадия ИФА, стадия “сотового легкого”, характеризовалась тяжелой дыхательной недостаточностью, сопровождавшейся развитием легочного сердца. При рентгенологическом исследовании легких отмечались признаки их буллезной трансформации. При микроскопическом исследовании в легких обнаруживались значительные склеротические и деструктивные изменения, а также перестройка легочной паренхимы с преимущественным поражением структур аэрогематического барьера в виде утолщения базальных мембран эпителия альвеол и эндотелия капилляров, десквамации альвеолярного эпителия и замещения его пневмоцитами 2-го порядка, часто с признаками незрелости и клеточного атипизма.

Показатели генерации АФК альвеолярными макрофагами снижались в позднюю стадию ИФА и достоверно не отличались от контрольных показателей, однако несколько превышали их. Выявленные изменения могут отражать особенности изменений функции альвеолярных макрофагов в позднюю склеротическую стадию, когда из клеток фагоцитирующих они превращаются в клетки в основном секреторные и индуцирующие пролиферацию и склероз, что коррелирует с нашими электронно-микроскопическими и иммуногистохимическими данными. Ультраструктура альвеолярных макрофагов на поздних стадиях ИФА характеризовалась признаками незрелости и высокой секреторной активности. Они напоминали клетку моноцитоидного типа, содержали преимущественно первичные лизосомы, при отсутствии вторичных, и характеризовались высоким синтезом фибронектина, что было выявлено при иммуногистохимическом исследовании.

При ИФА отмечается своеобразие свободнорадикальных реакций и процессов ПОЛ. Если при саркоидозе уровень МДА и АПА колебался однонаправленно с генерацией АФК моноцитами и альвеолярными макрофагами (достоверно увеличивались в период обострения и достоверно снижались в период ремиссии), то при ИФА отмечались разнонаправленные изменения. На поздних стадиях заболевания — в период формирования “сотового легкого” — по мере снижения ПИХЛб и ПИХЛс лейкоцитов и альвеолярных макрофагов, в крови регистрировалось увеличение содержания МДА (от $4,62 \pm 0,30$ до $5,4 \pm 0,2$

мкМ/л, $p < 0,001$ по отношению к контролю) — см.рис.4, что сочетается с увеличением отношения индуцированной ХЛ плазмы к спонтанной (от $6,8 \pm 0,6$ в контроле до $8,72 \pm 0,8$ в стадию интерстициального пневмонита и до $9,4 \pm 0,6$ в стадию “сотового легкого”; $p < 0,05$ по отношению к контролю). Таким образом, по мере прогрессирования ИФА отмечается накопление продуктов ПОЛ и снижение АПА плазмы (см.рис.5), что предположительно можно объяснить выраженной гипоксией у этих больных вследствие блока аэрогематического барьера.

Полученные результаты, как и данные литературы, подтверждающие, что супероксидный анион-радикал и его производные ($\text{OH}^\cdot$, $\text{O}_2^\cdot$, H_2O_2) являются медиаторами повреждения и воспаления, позволяют выдвинуть предположение о патогенетической роли АФК в патогенезе саркоидоза и ИФА, их высокой агрессивности и мотивируют использование в терапии этих заболеваний антиоксидантов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Болевич С. Роль свободно-радикальных процессов в патогенезе бронхиальной астмы: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — М., 1995.
2. Даниляк И.Г., Коган А.Х., Болевич С. // Тер. арх. — 1992. — № 3. — С.54—57.
3. Гусев В.А., Даниловская Е.В. // Вопр. мед. химии. — 1987. — № 5. — С.9—15.
4. Коган А.Х., Кудрин А.Н., Кактурский Л.В., Лосев Н.И. // Пат.физиол. — 1992. — №2. — С.5—15.
5. Коган А.Х., Погромов А.П. Активные формы кислорода, лейкоциты и патогенез гастродуоденальной язвенной болезни: учеб. пособие. — М.: Медицина, 1991.
6. Коган А.Х. и др. // Пат.физиол. — 1991. — № 1. — С.46—50.
7. Палеев Н.Р. // Болезни органов дыхания: Руководство. М.: Медицина, 1989. — Т.4. — С.72—73.
8. Пытов Н.В. Фиброзирующие альвеолиты. — Л., 1986. — С.167.
9. Allen R.S., Stierholm R.L., Steel R.H. // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 1972. — Vol.47. — P.679—684.
10. Allen R.S., Loose L.D. // Ibid. — 1976. — Vol.69. — P.245—284.
11. Allred C.D., Margetts J., Hill H.R. // Biochim. Biophys. Acta. — 1986. — Vol.631. — P.380—385.
12. Andersen B.R., Brendzen A.M. // J. Immunol. Meth. — 1978. — Vol.19. — P.279—287.
13. Anderson's Pathology // Ed. J.M.Kissane. — 9-th Ed. — New York, 1993.
14. Bielfeldt O.H., Babik L.A. // Inflammation. — 1984. — Vol.8. — P.251—254.
15. Crouch E. // Am. J. Physiol. — 1990. — Vol.259. — P.159—184.
16. Dalhoff K., Bohnet S., Braun F. // Thorax. — 1993. — Vol.48, № 1. — P.1140—1145.
17. Douset J.C. et al. // Clin. Chim. Acta. — 1983. — Vol.129, №3. — P.319—322.
18. Fishman A. Respiratory Diseases and Disorders. — 3-rd Ed. — New York, 1989.
19. Jacks T.J., Hinojosa O., Buck M.G. // Mol. Cell. Biochem. — 1989. — Vol.89. — P.15—19.
20. Kogan A. Kh. et al. // Cor et Vasa. — 1992. — Vol.34, № 3. — P.273—282.
21. Mills E.L., Quie P.G. // Исследование фагоцитов в клинической практике: Руководство / Под ред. С.Дугласа и др.: Пер. с англ. — М., 1973. — С.78—90.
22. Muir's Textbook of Pathology / Ed. R. MacSween. — 13-th Ed. — New York, 1992.
23. Rossi F. et al. // Adv. Inflammat. Res. — 1979. — Vol.1. — P.139—175.
24. Scappatici E., Libertucci D., Dottomica E. et al. // Am. Rev. Respir. Dis. — 1990. — Vol.141. — P.144—149.
25. Strausz J. et al. // Ibid. — P.124—128.

26. Stevans P., Winston D.I. et al. // Infect. Immun.— 1978.— Vol.22.— P.41—51.
27. Welb L.S., Kelly C.A., Stenton S. et al. // Ibid.— 1974.— Vol.9.— P.1051—1056.
28. Ward P.A. // Chest.— 1991.— Vol.100, №1.— P.230—232.
29. Ward C., Kelly C.A., Stenton S. et al. // Eur. Respir. J.— 1990.— Vol.3.— P.1009—1014.
30. Warren J.S. et al. // J. Clin. Invest.— 1989.— Vol.84.— P.1873—1882.

Поступила 29.06.95

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1996

УДК 616.2—02:614.71

*К.Партти-Пеллинен¹, С.Пиликин², С.Цыганков², О.Марттила¹,
Й.Яаккола³, П.Яппинен⁴, С.Пиутунен⁵, И.Силакоски⁵, В.Вилкка⁶,
Т. Хаантела⁷*

ВЛИЯНИЕ СЕРНИСТЫХ ВЫБРОСОВ ОТ ЦЕЛЛЮЛОЗНО-БУМАЖНЫХ ПРЕДПРИЯТИЙ НА ЗДОРОВЬЕ НАСЕЛЕНИЯ В СВЕТОГОРСКЕ В СЕВЕРО-ЗАПАДНОЙ ЧАСТИ РОССИИ

¹ Институт Аллергологии и Окружающей Среды Южной Карелии, Финляндия.
² Светогорское ТМО, Россия. ³ Хельсинкский университет, Финляндия.
⁴ А/О Энсо-Гутцейт, Финляндия. ⁵ Иматра, Финляндия.
⁶ Центральная больница Южной Карелии, Финляндия.
⁷ Центральная университетская больница Хельсинки, Финляндия.

THE EFFECT OF SULFUR WASTES FROM PAPER INDUSTRIES ON PUBLIC HEALTH IN SVETOGORSK, NORTH-WEST AREA OF RUSSIA

*K.Partti-Pellinen, S.Pilikin, S.Tsygankov, O.Martilla, Y.Jaakkola, P.Jappinen, S.Piutunen, I.Silakoski, V.Vilkka,
T.Haantela*

S u m m a r y

The effect of sulfur products in the air on public health was studied in 1992 to 1993. The study was a part of common Finnish Russian investigation named as "IEVA". there was not published information in Russia about atmosphere pollution effects on health of citizens exposed to chemical waste influence. Air concentrations of stinking wastes of sulfur products and sulfur dioxide in the industrial part of Svetogorsk were controlled by non-stop measuring devices. The special questionnaire was proposed for examination in citizens. It contained the query of various information about health, the appearance of symptoms (headache, eye and nose itching, cough, and dyspnea) during 1.5 years. The questionnaires were given to 1100 citizens, and 990 of the questionnaires were spread in Svetogorsk. The analysed answers were obtained in 430 persons in Svetogorsk (43%) and 85 persons in Losevo (77%). The greatest instant value of total concentrations of stinking sulfur products in Svetogorsk, as well 144 mkg/m³, was 3 times greater than that in Losevo. Average values of hour mean concentrations of stinking sulfur products were 5 mkg/m³ in Svetogorsk (period of 06.01 to 24.06.1992) and 12 mkg/m³ in Losevo (period of 21.07 to 07.11.1992). The greatest hour mean concentration of sulfur dioxide and the greatest daily value were 540 mkg/m³ and 125 mkg/m³ respectively in Svetogorsk, and these ones were 123 mkg/m³ and 33 mkg/m³ respectively in Losevo. During the whole study period, the mean concentration of sulfur dioxide 16 mkg/m³ and 10 mkg/m³ in Svetogorsk and Losevo respectively.

Р е з ю м е

Произведенное в г.Светогорске в России с 1992 г. по 1993 г. исследование для выявления влияния сернистых соединений атмосферного воздуха на здоровье населения являлось частью общего финляндско-российского исследования "ИЭВА". В России раньше не публиковались сведения о влиянии атмосферных загрязнений на здоровье населения, подвергающегося воздействию выбросов. Концентрации дурно пахнущих сернистых соединений и двуокиси серы в промышленном городе Светогорске относительно Лосево контролировались постоянно работающими измерительными приборами. Вместе с этим среди населения распространялся специальный опросник по состоянию здоровья. В анкете запрашивалось о различных, касающихся здоровья, сведениях, о появлении симптомов (головная боль,