

удельный вес больных с микоплазменной пневмонией (по нашим данным, от 8 до 30 % в зависимости от эпидемиологической ситуации в разные годы) и легионеллезной инфекцией (7,4 % на 645 обследованных пациентов), требующих лечения другими, нежели большие пневмококковыми пневмониями, антибактериальными препаратами.

Несколько иная ситуация складывается при хронических бронхитах, где наряду с такой же, как и при острых пневмониях, высокой частотой выделения пневмококка возрастает роль гемофильной палочки (до 30 % больных) и пиогенного стрептококка (в 25 % случаев), а удельный вес условно-патогенных бактерий кишечной группы и дрожжеподобных грибов рода *Candida* достигает соответственно 80 и 40 % (данные получены при обследовании больных старше 60 лет). Последние, безусловно, далеко не во всех случаях можно отнести к непосредственным возбудителям хронического бронхита, поскольку высокие их концентрации в бронхиальном секрете отмечались у незначительной части больных. Однако обнаружение этих микроорганизмов свидетельствует о глубоких нарушениях микробиоценоза верхних

дыхательных путей, что определяет более тяжелое течение процесса на фоне снижения общей резистентности макроорганизма и создает предпосылки к возникновению вторичных инфекций путем аспирации микрофлоры ротовой полости. Естественно, что в этих ситуациях тактика антибактериальной терапии должна строиться с учетом выявленных факторов.

Таким образом, не умаляя роль пневмококка и пневмококковой инфекции в этиологии и патогенезе острых и хронических заболеваний органов дыхательной системы и большой вклад автора статьи в решение данной проблемы, следует отдать должное и другим, не менее значимым, микробным агентам, часто принимающим участие в развитии смешанных бронхолегочных инфекций, патогенез которых и взаимоотношения между ассоциантами требуют дальнейшего изучения.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Ноников В. Е., Зубков М. Н., Гугуцидзе Е. Н. // Пульмонология.— 1991.— № 1.— С. 15—19.

Поступила 18.03.93

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1993

УДК 616.24-004-092:612.017

*Е. С. Лебедева, Л. Н. Данилов, Е. М. Еропкина, Т. П. Сесь,  
Г. Е. Афиногенов, А. Г. Булычев*

### СОСТОЯНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ ЗАЩИТЫ ЛЕГКИХ У КРЫС С ТОКСИЧЕСКИМ ЛЕГОЧНЫМ ФИБРОЗОМ

Научно-исследовательский институт пульмонологии МЗ РФ, г. Санкт-Петербург

#### STATE OF ANTIMICROBIAL DEFENCE OF LUNGS IN RATS WITH TOXIC PULMONARY FIBROSIS

*E. S. Lebedeva, L. N. Danilov, E. M. Eroпкиna, T. P. Ses, G. E. Aphynogenov, A. G. Bulychev*

#### Summary

The single intratracheal bleomycin instillation was used to produce a model for the development of pulmonary fibrosis in rats. The study of bronchoalveolar lavage fluid (BALF) was performed at 1, 3, 7, 14, 30 days after bleomycin administration. An addition of BALF from bleomycin-treated rats to the incubation mixture considerably suppressed the reproduction of *Staphylococcus aureus* and enhanced self antiadhesive properties. The minimal adhesion (as well as the maximal bacteriostatic effect) was observed at 3th day post bleomycin. The index of adhesion remained lower than in untreated rats for 30 days. The percentage of neutrophils and lymphocytes in BALF significantly increased post bleomycin. The increase of IL-2, IL-2, and natural killer activities and high levels of elastase and collagenase were found after bleomycin instillation. It was supposed that the high antimicrobial activity of BALF may be conditioned by defensive bacteriocidic functions of stimulated neutrophils and macrophages and the high activity of natural killer cells. Aseptic conditions may play an important role in the inflammation transforming to pulmonary fibrosis.

#### Резюме

Одиночная внутритрахеальная инстилляция блеомицина использовалась для создания модели развития легочного фиброза у крыс. Исследование жидкости бронхоальвеолярного лаважа (BALF) выполнялось на 1, 3, 7, 14, 30 сутки после назначения блеомицина. Добавление

BALF от обрабатываемых блеомицином крыс к смеси инкубаций значительно снижало воспроизведение *Staphylococcus aureus* и расширяло его антиадгезивные свойства. Минимальная адгезия (также как максимальный бактериостатический эффект) наблюдалась на 3-й день после блеомицина. Индекс адгезии оставался ниже, нежели у нелеченных крыс в течение 30 дней. Процент нейтрофилов и лимфоцитов в BALF значительно увеличивался после блеомицина.

Увеличение IL-1, IL-2 и активности естественных киллеров и высокие уровни эластазы и колагеназы были обнаружены после впрыскивания блеомицина. Предполагалось, что высокая антимикробная активность BALF может обуславливаться защитной бактерицидной функцией стимулируемых нейтрофилов и макрофагов и высокой активностью клеток естественных киллеров. Асептические условия могут играть важную роль в преобразовании воспаления в легочный фиброз.

Исследования на моделях интерстициального фиброза легких свидетельствуют о стереотипной реакции легочных структур на самые различные повреждающие факторы [13]. Ингаляционное воздействие любого ксенобиотика (индустриального, бытового или иного происхождения) сопровождается выраженной реакцией механизмов защиты легких. Взаимодействие макрофагов, лимфоцитов и полиморфно-нуклеарных лейкоцитов, опосредованное секретируемыми этими клетками медиаторами, ферментами и хемоаттрактантами, формирует микросреду, в которой развивается воспалительная реакция, в значительной мере определяет ее направленность и исход. Связь между первичной клеточной реакцией и фибропластическим процессом в легких, а также условия, определяющие переход воспаления в диффузный интерстициальный фиброз, во многом остаются неясными. В последние годы для решения этих вопросов все чаще используется анализ свойств бронхоальвеолярной лаважной жидкости (БАЛЖ) как экспериментальных животных с индуцированным различными агентами легочным фиброзом, так и больных с диффузными интерстициальными заболеваниями легких [12].

Целью настоящей работы было изучение показателей функциональной активности клеточных элементов и антимикробных свойств бронхоальвеолярной лаважной жидкости крыс в процессе развития токсического фиброза легких, вызванного интратрахеальным введением блеомицина.

Исследования выполнены на крысах-самцах Вистар массой 150—160 г. Фиброз легких моделировали путем интратрахеального введения противоопухолевого антибиотика блеомицина — БЛМ (Nippon Kayaku CO. LTD, Япония) из расчета 10 мг/кг. Контрольным животным интратрахеально вводили 0,9 % раствор хлорида натрия. Животных исследовали на 1, 3, 7, 14 и 30-е сутки после инстилляций препарата. Под наркозом (тиопентал, 25 мг/кг) вскрывали грудную полость, перевязывали трахею и извлекали легкие. Бронхоальвеолярный лаваж выполняли на изолированных легких 20 мл стерильного изотонического раствора хлорида натрия (37 °С) по 4 мл на одно введение. Лаважную жидкость собирали в силиконизированные пробирки и использовали для последующего анализа. В камере Горяева подсчитывали число клеток в 1 мл БАЛЖ с после-

дующим пересчетом на весь извлеченный из легких объем. После центрифугирования выполняли дифференциальный клеточный анализ на окрашенных гематоксилин-эозином препаратах.

Антимикробную активность БАЛЖ оценивали по скорости размножения тест-культуры *Staphylococcus aureus*. Инкубационная смесь состояла из 1 мл универсальной питательной среды для выращивания бактерий («Abbott», США), 1 мл БАЛЖ (супернатант) и  $0,2 \text{ мл} \cdot 10^8 \text{ St. aureus}$ . Суточную кривую бактериального роста регистрировали графически с помощью автоматизированной микробиологической системы «Avantage» («Abbott», США) и оценивали, сравнивая со «стандартом», инкубационная среда которого состояла из питательного бульона и не содержала БАЛЖ. Для изучения влияния БАЛЖ на процесс бактериальной адгезии использовали культуру клеток эпителиоидной карциномы гортани HEp-2. Суспензию клеток в концентрации 100—200 тыс./мл выращивали в пробирках на покровных стеклах в ростовой среде ДМЕМ в течение 48 ч при 37 °С. Затем ростовую среду заменяли образцами БАЛЖ экспериментальных или контрольных животных, добавляли взвесь *St. aureus* из расчета  $10^8 \text{ кл/мл}$  и инкубировали 2 ч при 37 °С. В качестве «стандартных условий» оценивали взаимодействие бактерий и эукариотических клеток в поддерживающей питательной среде. После инкубации покровные стекла с монослоем HEp-2 многократно отмывали от неприкрепившихся бактерий, фиксировали 96° этанолом, окрашивали по методу Романовского — Гимзы и после обезвоживания заключали в бальзам. Индекс адгезии рассчитывали как среднее число бактерий, адгезировавших к одной эукариотической клетке-мишени.

Активность интерлейкина-1 (ИЛ-1) определяли на культуре мышинных тимоцитов в присутствии конканавалина А [3], активность интерлейкина-2 (ИЛ-2) — после инкубации с фитогемагглютинином, тестируя на культуре мышинных Т-лимфобластов [3]. Активности ИЛ-1 и ИЛ-2 оценивали с помощью индексов стимуляции в условных единицах. Стандартами служили очищенные препараты ИЛ-1 и ИЛ-2 (НИИОЧБ, Санкт-Петербург). Активность естественных киллеров (ЕК) исследовали по методу М. П. Рыковой и др. [4]. Лимфоциты выделяли из БАЛЖ центрифугированием

Таблица 1

Клеточный состав БАЛЖ крыс после внутритрахеального введения блеомицина

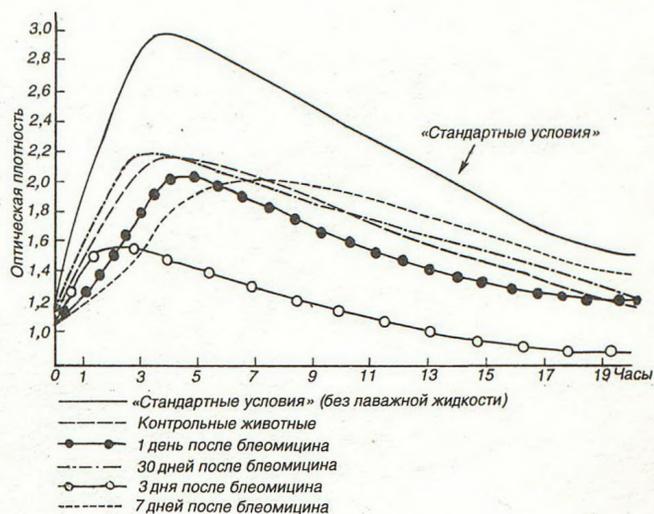
Дни после БЛМ	Общее число клеток · 10 <sup>6</sup>	Макрофаги, %	Нейтрофилы, %	Лимфоциты, %
1	14,1±1,0*	55,7±3,2*	18,0±2,1*	26,3±1,4*
3	11,0±0,8	55,4±2,9*	19,6±1,9*	25,0±1,6*
7	12,1±0,9*	60,0±3,5*	26,6±1,9*	13,4±1,3
14	13,1±0,8*	51,0±3,4*	30,0±2,2*	18,9±2,2*
30	14,7±2,1*	72,2±4,9	17,3±1,8*	10,5±1,4
Контроль	10,1±0,3	84,4±4,2	2,9±0,1	12,2±0,6

Примечание. Звездочка — различие с контролем достоверно,  $p < 0,05$ . Данные представлены как среднее ± стандартная ошибка. Число наблюдений в каждой группе 8—10.

и доводили их концентрацию до  $2 \cdot 10^6$ /мл. Клетками-мишенями служила перевиваемая линия миелолейкоза К-562, меченная <sup>3</sup>H-уридином. Цитотоксический тест ставили в круглодонных планшетах в отношении эффекторы/мишени 25:1. Индекс цитотоксичности рассчитывали в процентах. Поглонительную способность альвеолярных макрофагов оценивали по методу Е. И. Шмелева и др. [6] с использованием стандартных частиц латекса и расчетом фагоцитарного числа (процент фагоцитирующих клеток) и фагоцитарного индекса (количество частиц латекса, поглощенных одной клеткой). Определение коллагеназы и эластазы проводили в клеточном гомогенате БАЛЖ. Активность коллагеназы определяли с использованием меченого коллагена [8]. Нативный мономерный коллаген готовили из хвостового сухожилия крыс [9]. Коллаген метили <sup>3</sup>H-ацетилангидридом [8]. Активность эластазы оценивали спектрофотометрически и использованием в качестве субстрата р-нитрофенил-N-терт-бутилоксикарбонилаланина [14]. Результаты обработаны с помощью t-критерия Стьюдента.

Проведенные ранее [1] морфологические исследования выявили уже в первые сутки после внутритрахеальной инстилляцией БЛМ инфильтрацию легочной ткани нейтрофилами, макрофагами и лимфоцитами, усиливавшуюся на протяжении последующих 7 дней. К 14-му дню в межальвеолярных перегородках дифференцировались единичные коллагеновые волокна, а к 30-му дню количество соединительной ткани в легких нарастало, отражая морфологическую картину развивающегося фиброза.

В период острого воспаления изменялось количественное соотношение клеток в БАЛЖ (табл. 1). Число нейтрофилов возрастало в сравнении с контрольной группой в первые сутки в 8 раз, к 7-м суткам — в 10 раз. Максимальное содержание нейтрофилов, превышавшее контрольное значение в 13 раз, было отмечено через две недели после введения БЛМ. К 30-му дню намечалась тенденция к уменьшению нейтрофилов в лаважной жидкости, хотя число нейтрофилов оставалось по-прежнему выше, чем в контроле. Содержание



Суточные кривые бактериального роста *Staphylococcus aureus* под влиянием бронхоальвеолярной лаважной жидкости крыс в различные сроки после внутритрахеального введения блеомицина. Кривые зарегистрированы с помощью системы «Avantage» (США). По оси абсцисс — время, по оси ординат — оптическая плотность.

лимфоцитов оказалось максимальным в первые три дня после инстилляцией БЛМ, превышая контрольные цифры более чем в два раза. Содержание альвеолярных макрофагов (АМ) в течение двух недель после введения БЛМ оставалось несколько сниженным и лишь к 30-му дню не отличалось от значений в контроле.

Изучение динамики антимикробной активности БАЛЖ, определяемой по уменьшению скорости размножения тест-культуры *St. aureus* (бактериостатический эффект), показало, что введение в инкубационную среду лаважной жидкости крыс, которым инстилляировали БЛМ, в большей степени подавляло размножение бактерий по сравнению с эффектом БАЛЖ, полученной от контрольных животных (рисунок). Увеличение антимикробной активности БАЛЖ, отмеченное уже в первый день после введения БЛМ, достигало максимума к 3-му дню, постепенно возвращаясь к контрольному уровню к 30-м суткам. Сходным оказалось изменение другого показателя антимикробной защиты БАЛЖ, характеризующего ее антиадгезивные свойства (табл. 2). Лаважная жидкость контрольных крыс, как и большинство тканевых жидкостей микроорганизма *in vitro*, подавляла адгезию *St. aureus* к клеткам-мишеням НЕР-2: индекс адгезии в среднем по сравнению со «стандартными условиями» ( $30,1 \pm 1,5$ ) уменьшался до  $19,4 \pm 1,0$  ( $p < 0,05$ ). После интратрахеального введения БЛМ антиадгезивные свойства БАЛЖ значительно усиливались. Минимальная адгезия (также как наибольшая бактериостатическая активность) отмечалась на 3-й день после введения БЛМ, когда на поверхности одной эукариотической клетки можно было обнаружить лишь 2—3 бактериальные клетки. В последующие дни наблюдалась тенденция к увеличению адгезии, но

Таблица 2

Индекс адгезии для *St. aureus* в среде, содержащей пробы БАЛЖ крыс после введения блеомицина

Дни после БЛМ	Индекс адгезии		
	после БЛМ	после 0,9 % NaCl (контроль)	«стандартные условия» (без БАЛЖ)
1	14,1±0,1**	19,0±1,1*	35,7±2,2
3	2,4±0,4**	17,0±1,8*	30,2±3,1
7	6,2±1,0**	21,4±3,2*	29,1±2,3
14	10,2±0,6**	20,1±1,3*	25,0±3,4
30	13,8±0,9**	19,4±2,5*	30,1±2,8

Примечание. Звездочка — различие со «стандартными условиями» достоверно,  $p < 0,05$ ; две звездочки — различие с контролем достоверно,  $p < 0,05$ . Данные представлены как среднее ± стандартная ошибка.

и на 30-й день индекс адгезии оставался на 30 % ниже, чем у контрольных животных. Следует отметить, что сам БЛМ, введенный в инкубационную питательную среду, антиадгезивного действия на прикрепление бактерий к клеткам-мишеням не оказывал: индекс адгезии составлял  $26,3 \pm 4,2$ .

Надо полагать, что высокая антиадгезивная активность БАЛЖ в динамике инициированного БЛМ воспаления и фиброгенеза может быть обусловлена защитными биоцидными функциями стимулированных нейтрофилов и АМ, в значительной мере связанных с НАДФН-оксидазозависимой генерацией активных форм кислорода. При интратрахеальном введении БЛМ одними из первых клеток-мишеней оказываются АМ, составляющие в норме большинство в клеточной популяции бронхоальвеолярного пространства, в среднем 84,4 % (см. табл. 1). О существенной активации АМ свидетельствовала возрастающая в первый же день после введения БЛМ их поглотительная способность, выражавшаяся в увеличенном в 2 раза числе фагоцитирующих макрофагов и повышении также в 2 раза абсорбционной способности отдельного АМ (табл. 3). Стимулированные АМ продуцируют хемотаксические факторы, что ведет к притоку нейтрофилов в легкие, а также ряд медиаторов, способных модулировать интерсти-

циальное воспаление и фибротические процессы в легких, и среди них ИЛ-1. Активность ИЛ-1 в БАЛЖ (см. табл. 3) наиболее значительно возрастала в первый (на 89 % от контроля) и особенно на 3-й день (на 172 % от контроля) после введения БЛМ, именно в тот период, когда отмечалась наибольшая функциональная активность АМ. Затем уровень ИЛ-1 существенно снижался, хотя оставался до 14-го дня достоверно выше контрольного значения. Через месяц после введения БЛМ уровень ИЛ-1 не отличался от нормы. Не исключая возможного вклада в продукцию ИЛ-1 стимулированных нейтрофилов, следует, вероятно, рассматривать активированные АМ в качестве его основных продуцентов. ИЛ-1 не только регулирует пролиферацию и дифференцировку лимфоцитов, фибробластов, эпителиоцитов, но и модулирует функции центров нейроэндокринной системы, осуществляя связь очага воспаления с целым организмом [7]. Через ИЛ-1 к воспалительным процессам могут подключаться лимфоциты, содержание которых в БАЛЖ также было наибольшим в первые три дня после инстиляции БЛМ (см. табл. 1) [11]. Известно, что ИЛ-1 активирует Т-лимфоциты, локализующиеся в альвеолах, к синтезу хелперного фактора для В-клеточной дифференцировки — ИЛ-2. Митогенный фактор ИЛ-2 необходим для развития цитотоксических Т-лимфоцитов [5]. Как показали результаты анализа БАЛЖ крыс после инстиляции БЛМ, уровень ИЛ-2 нарастал в первый день в 3 раза, а к 14-му дню в 4,5 раза по сравнению с контролем. В эти же сроки значительно возрастал цитотоксический индекс (см. табл. 3), характеризующий активность естественных киллеров — субпопуляции лимфоцитов (или предшественников Т-клеток), не являющихся эффекторами специфического иммунного ответа. Цитотоксический индекс возрастал в первый день после БЛМ в 4,3 раза, пик активности ЕК-клеток отмечался на 3-е и 14-е сутки, соответственно в 9,5 и 10 раз выше контрольных значений. Величина индекса цитотоксичности оставалась высокой и через месяц после инстиляции БЛМ, в то время как уровень ИЛ-2 уже нормализовался. Вероятно,

Таблица 3

Показатели функциональной активности клеток БАЛЖ крыс после внутритрахеального введения блеомицина

Дни после БЛМ	Фагоцитарное число, %	Фагоцитарный индекс, ед.	ИЛ-1, усл. ед.	ИЛ-2, усл. ед.	Цитотоксический индекс, %	Эластаза, нМ·10 <sup>6</sup> кл/мин	Коллагеназа, имп·10 <sup>6</sup> кл/мин
1	73,0±1,3*	6,1±0,7*	10,8±0,8*	8,8±0,5*	22,6±1,8*	1,36±0,01*	4,61±0,20*
3	65,5±2,8*	4,6±0,2*	15,5±0,9*	10,4±0,6*	50,2±3,4*	1,30±0,05*	4,92±0,31*
7	46,3±2,5*	4,2±0,4*	9,3±0,5*	12,2±0,9*	29,6±2,0*	1,68±0,10*	10,11±0,51*
14	45,7±2,5*	3,5±0,5	8,9±0,5*	13,2±0,9*	52,8±3,8*	1,92±0,09*	11,76±0,78*
30	45,5±0,9*	2,6±0,2	5,3±0,3	3,3±0,2	43,3±2,7*	2,20±0,08*	19,60±0,86*
Контроль	38,7±2,6	3,0±0,4	5,7±0,3	2,9±0,1	5,3±0,8	0,71±0,003	3,09±0,15

Примечание. Звездочка — различие с контролем достоверно,  $p < 0,05$ . Приведены средние ± стандартная ошибка. Число наблюдений в каждой группе 8—10.

это связано с выраженными деструктивными процессами, происходящими в легочной ткани.

Лимфоциты, наряду с АМ, служат источниками хемотаксинов для полиморфно-нуклеарных лейкоцитов, мобилизуют их микробицидный потенциал. Лимфоцитарные продукты усиливают кислородзависимый метаболизм нейтрофилов, так называемый респираторный взрыв, а также секрецию обоими типами фагоцитов (АМ и нейтрофилами) лизосомальных ферментов, в частности эластазы и коллагеназы. Активность обоих ферментов прогрессивно нарастала в БАЛЖ в течение 30 дней после воздействия БЛМ (см. табл. 3): в первый день прирост активности эластазы составил 1,9 раза, коллагеназы 1,5 раза, на 7-й день — 2,4 и 3,3 раза соответственно и к 30-му дню — 3,1 и 6,3 раза соответственно. Поскольку нейтральные протеазы секретируются только активированными АМ, а в наших опытах функциональная активность АМ начинала снижаться на 7—14-е сутки после введения БЛМ, то, вероятно, высокий уровень эластазы и особенно коллагеназы следует связать прежде всего с нейтрофильной активностью в очаге воспаления. Наличие в БАЛЖ большого числа нейтрофилов, продуцирующих высокоактивные гидролазы, в определенной степени может тормозить разрастание соединительной ткани. Однако образующиеся при расщеплении коллагена пептиды по механизму обратной связи могут запускать вновь его синтез в фибробластах, т. е. высокая активность коллагеназы в очаге воспаления не гарантирует полное торможение фиброгенеза в легких. Показано, что БАЛЖ больных с идиопатическим фиброзирующим альвеолитом содержит значительные количества нейтрофилов и коллагеназы [15]. Фиброз, как известно, характеризуется беспорядочным отложением коллагена и перераспределением его типов, что может быть в какой-то степени обусловлено нарушением регуляции коллагенолиза. Кроме того, нейтральные протеазы способны разрушать поверхностный белок фибробластов — фибронектин, участвующий в межклеточном взаимодействии и взаимодействии клетка — внеклеточный матрикс. Нейтральные протеазы характеризуются не только как медиаторы воспаления, но являются и модуляторами функций клеток-эффекторов воспаления. Так, под действием нейтральных протеаз, в том числе и тех, которые секретируются самими фагоцитами, может возрастать их микробицидный потенциал [10]. Сами ферменты не вызывают генерации активных форм кислорода, но они сенсibiliзируют фагоцитарную клетку к действию микробных и тканевых стимулов, т. е. к реализации респираторного взрыва. Усиление окисления глюкозы в гексозомонофосфатном цикле создает условия для образования в процессе окисления НАДФН активных форм кислорода (супероксидного аниона, гидроксильного радикала, перекиси водорода и др.), оказывающих цитотоксическое действие, инициируя реакции пе-

роксидации липидов в клеточных мембранах и вторичное повреждение клеток в очаге воспаления.

Выраженный бактериостатический эффект БАЛЖ и ее высокие антиадгезивные свойства свидетельствуют об усилении антимикробной защиты легких у крыс в процессе формирования токсического легочного фиброза. Полученные результаты позволяют полагать, что антимикробные свойства БАЛЖ после интратрахеального введения БЛМ в значительной мере обусловлены продукцией активных метаболитов кислорода фагоцитами, в первую очередь нейтрофилами, содержание которых в БАЛЖ было стойко повышено на протяжении 30 сут. наблюдения, а также цитотоксической активностью субпопуляции естественных киллеров в легких. По-видимому, преобладание нейтрофильно-лимфоцитарной реакции препятствует развитию репаративных процессов в легочной ткани, связанных с восстановлением поврежденного БЛМ бронхиального эпителия, и способствует формированию фиброза, потенцируя вторичное повреждение ткани активными формами кислорода и нерегулируемый коллагенолиз. В соответствии с полученными нами ранее данными [2] можно полагать, что наиболее благоприятной для развития регенеративных процессов в легочной ткани является реакция, связанная с быстрым обновлением альвеолярного пула макрофагов за счет молодых функционально полноценных клеточных форм, что обуславливает пролиферацию поврежденного бронхиального эпителия и тем самым замедление процесса фиброобразования.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Данилов Л. Н., Лебедева Е. С., Маховенко Л. В. и др. Патогенетические особенности формирования экспериментального фиброза легких // Актуальные проблемы пульмонологии.— Л., 1991.— С. 141—143.
2. Данилов Л. Н., Лебедева Е. С., Чернякова Д. Н., Кожемякин А. Л. Применение пептидов слизистой трахеи как способ подавления фиброгенеза в легких в эксперименте // Современные проблемы клинической и профилактической пульмонологии.— СПб., 1992.— С. 144—150.
3. Иммунология. Методы исследования / Под ред. И. Лефковитса, Б. Пернса: Пер. с англ.— М.: Мир, 1983.
4. Рыкова М. П., Спирадзе И. В., Зедгендзе М. С. Новая высокочувствительная техника тестирования нормальных киллеров // Иммунология.— 1984.— № 3.— С. 88—90.
5. Фримель Х., Брок Й. Основы иммунологии: Пер. с нем.— М.: Мир, 1986.
6. Шмелев Е. И., Бумагина Г. К., Мизерева Ю. Т. Феномен антигенспецифической супрессии функциональной активности нейтрофилов периферической крови у больных хроническим бронхитом и абсцессами легких // Иммунология.— 1981.— № 3.— С. 61—64.
7. Besedovsky H. Integration of activated immune cell products in immune-endocrine feed-back circuits H // Leucocytes and Host Defence.— New York, 1986.— P. 197—205.
8. Cawston T. E., Murphy G. Mammalian collagenases // Meth. Enzymol.— 1981.— Vol. 80.— P. 711—722.
9. Chandrakasan G., Tochia D. A., Piez K. A. Preparation of intact monomeric collagen from rat tail tendon and skin and structure of nonhelical ends in solution // J. Biol. Chem.— 1976.— Vol. 251, N 11.— P. 6062—6067.
10. Johnstone R., Chadwick D., Cohn Z. Priming of macrophages

- for enhanced oxidative metabolism by exposure to proteolytic enzymes // *J. Exp. Med.*— 1981.— Vol. 153, N 5.— P. 1678—1683.
11. *Karpel J. P., Aldrich T. K., Mitsudo S., Norin A. J.* Lung lymphocytes in bleomycin-induced pulmonary disease // *Lung.*— 1989.— Vol. 167, N 1.— P. 163—172.
  12. *Reynolds H. Y.* Bronchoalveolar Lavage // *Am. Rev. Respir. Dis.*— 1987.— Vol. 135, N 2.— P. 250—263.
  13. *Snider G. L.* Interstitial pulmonary fibrosis // *Chest.*— 1986.— Vol. 89, N 3.— Suppl.— P. 115S—121S.
  14. *Visser L., Blout E. R.* The use of p-nitrophenyl N-tert-butyl-oxy-carbonyl-L-alanine as substrate for elastase // *Biochim. Biophys. Acta.*— 1976.— Vol. 268, N 2.— P. 257—260.
  15. *Walters L. C., King T. E., Cheniack R. M.* Bronchoalveolar lavage fluid neutrophils increase after corticosteroid therapy in smokers with idiopathic pulmonary fibrosis // *Am. Rev. Respir. Dis.*— 1986.— Vol. 133, N 1.— P. 104—109.

Поступила 13.02.93.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1993

УДК 616.24-004-06:616.231-018.25

*Л. Н. Данилов, Е. С. Лебедева, Н. Е. Окунева, А. Л. Кожмякин*

## ВЛИЯНИЕ ПЕПТИДОВ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ТРАХЕИ НА РАЗВИТИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ФИБРОЗА ЛЕГКИХ

Отделение экспериментальной патологии НИИ Пульмонологии Минздрава РФ, Санкт-Петербург

### THE EFFECT OF TRACHEAL MUCOUS MEMBRANE PEPTIDES ON THE DEVELOPMENT OF EXPERIMENTAL PULMONARY FIBROSIS

*L. N. Danilov, E. S. Lebedeva, N. E. Okuneva, A. L. Kodjemiakin*

#### Summary

The model of bleomycin-induced pulmonary fibrosis was produced in rats to evaluate the effect of tracheal mucous membrane peptides (TMMP) used for prevention of massive proliferation in the interstitial connective tissue in lungs. The application of TMMP reduced the negative consequences of bleomycin administration. The mortality was decreased by three times. The body weight was increased at 52 % of the initial value. Hypertrophy of the right heart ventricle developed in a smaller degree in comparison with untreated rats. The content of the connective tissue in alveolar walls was diminished. It was loose of the connective tissue with non numerous collagen fibers. Ultrastructural studies of bronchoalveolar lavage cells showed great differences of alveolar macrophage populations in two groups of rats — untreated and treated with TMMP. The possible role of alveolar macrophages in the observed effect of TMMP for modulation of fibroplastic process in lungs is discussed.

#### Резюме

Моделирование легочного фиброза, вызванного блеомицином, производилось на крысах для оценки эффекта пептидов слизистой трахеи (ТММР), используемых для предотвращения массивного быстрого разрастания интерстициальной соединительной ткани в легких. Применение ТММР уменьшило отрицательные последствия администрации блеомицина. Смертность уменьшилась в три раза. Вес тела увеличивался на 52 % от начального значения. Гипертрофия правого желудочка сердца развивалась в меньшей степени по сравнению с нелечеными крысами. Содержание соединительной ткани в альвеолярных стенках уменьшалось. Это было уменьшение соединительной ткани с не многочисленными волокнами коллагена. Ультраструктурные исследования клеток бронхоальвеолярного лаважа показали большие различия популяций альвеолярных макрофагов в двух группах крыс — нелеченной и обработанной ТММР. Обсуждается возможная роль альвеолярных макрофагов в наблюдаемом эффекте ТММР для модуляции фибропластического процесса в легких.

Токсические фиброзирующие альвеолиты представляют большую группу интерстициальных заболеваний легких, возникающих у людей в результате воздействия различных патогенных индустриальных агентов и поллютантов. Около 53 % ксенобиотиков проникают в организм через легкие [1]. Во многих случаях этиология и патогенез фиброзирующего процесса в легких остаются полностью неизвестными, что ограничивает возможности

адекватной терапии, ухудшает прогноз этого тяжелого заболевания.

Исследования, проведенные на различных экспериментальных моделях интерстициального фиброза легких, свидетельствуют, что повреждение легких, вызванное блеомицином [4, 12], паракватом [10], токсическими производными кислорода [7], циклофосфамидом [5], происходит стереотипным путем [11]. Важная роль в развитии легоч-