



УДК 616.24-092  
ББК 28.071

## МОДЕЛИРОВАНИЕ ОСТРОГО ЛЕГОЧНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПУТЕМ ИНГАЛЯЦИИ УЛЬТРАДИСПЕРСНЫХ АЭРОЗОЛЕЙ БАКТЕРИАЛЬНОГО ЛИПОПОЛИСАХАРИДА

**Новочадов Валерий Валерьевич**

Доктор медицинских наук, профессор,  
заведующий кафедрой биоинженерии и биоинформатики  
Волгоградского государственного университета  
novovv@rambler.ru, biobio@volsu.ru  
Проспект Университетский, 100, 400062 г. Волгоград, Российская Федерация

**Фролов Дмитрий Михайлович**

Аспирант кафедры биоинженерии и биоинформатики  
Волгоградского государственного университета  
frolov.volsu@gmail.com, biobio@volsu.ru  
Проспект Университетский, 100, 400062 г. Волгоград, Российская Федерация

**Аннотация.** С целью отработки экспериментальной модели острого легочного повреждения в опытах на 24 белых крысах проводили однократные ингаляции липополисахарида *E. coli* O128 : B12 в виде ультрадисперсного аэрозоля для лучшего проникновения в респираторный аппарат легких. Исследовали динамику содержания липополисахарида и морфологию легких через 3, 8 и 24 ч после ингаляции. Помимо классических гистологических и количественных морфологических методик, визуализировали иммуногистохимическими методами клетки и структуры, позитивные к CD68, десмину и альфа-антитрипсину. Ателектаз, экссудация в просвет бронхов, интенсивность и динамика сосудистых и макрофагальных реакций, повреждения бронхиального и альвеолярного эпителия, а также выявленная ранняя миграция миофибробластов в межальвеолярные перегородки и супрессия альфа-антитрипсина могут быть отнесены к морфологическим критериям острого легочного повреждения в представленной модели. Разработанная модель адекватно отражает аналогичные процессы при остром токсическом повреждении легких у человека.

**Ключевые слова:** липополисахарид, ингаляционное поступление, легкие, морфология, эндотоксемия.

### Введение

Бактериальные липополисахариды (далее – ЛПС) являются уникальными молекулами, обладающими широким спектром биологических эффектов в отношении клеток многих органов и тканей теплокровных при попадании в их организм. Эндогенный ЛПС, посту-

пающий в кровоток из кишечника в небольших концентрациях, является одним из естественных регуляторов иммунитета. При появлении в организме в больших концентрациях за счет своей способности активировать выброс цитокинов макрофагами (далее – МФ), воздействия на эндотелий и паренхиматозные клетки некоторых органов ЛПС способен вызывать мест-

ные повреждения тканей и системные реакции, вплоть до септического шока [2; 3; 14].

Последствия ингаляционного поступления ЛПС в организм изучены в наименьшей степени. Специфика токсического повреждения легких обусловлена их структурно-функциональными особенностями, значительными объемами транзита атмосферного воздуха и крови, а также высоким представительством клеток, имеющих рецепторы к ЛПС (CD14, TLR4) и секретирующих биологически активные вещества в ответ на контакт с ним [9; 11; 15].

Интенсивность тканевых изменений в легких варьируется в зависимости от дозы поступающего ЛПС и кратности воздействия. Для острого процесса характерно цитокинзависимое повреждение эндотелия и эпителиальной выстилки межальвеолярных перегородок, повышение сосудистой проницаемости и накопление экссудата, в том числе и полиморфно-ядерных лейкоцитов, в альвеолярных пространствах. Эта картина по морфологии описывается как «острое легочное повреждение», при максимальной выраженности – как респираторный дистресс-синдром взрослых, или «шоковое легкое» [1; 6; 8; 12].

При ингаляции малых доз бактериального ЛПС развивается повреждение по типу субхронического бронхоальвеолита, сопровождающееся частичной деструкцией бронхиального эпителия и альвеолоцитов, реакцией альвеолярных и бронхиальных МФ, снижением воздушности легких при умеренно выраженной бронхиальной экссудации [2; 5; 7]. Подобная картина повреждения легких описана у людей, имеющих профессиональный контакт с аэрогенной формой ЛПС, – работников мясокомбинатов, парниковых хозяйств и ряда подобных предприятий [10; 13].

Основные модели ингаляционного повреждения легких, применяемые на сегодняшний момент в экспериментальной биологии и медицине [1; 6; 7], исходят из того, что аэрозольная дисперсия ЛПС при спонтанном вдохе практически полностью оседает и обезвреживается в верхних дыхательных путях. В связи с этим для исследования эффектов ЛПС на альвеолярный аппарат легких в основном используется интратрахеальное введение токсина, что достаточно трудоемко. Использование ультрадисперсных аэрозолей может

обеспечить лучшую доставку ЛПС к клеткам межальвеолярных перегородок и сделать модель ингаляционного ЛПС более адекватной и доступной в исполнении.

**Цель работы** – изучить основные эффекты ЛПС при его ингаляционном поступлении в организм в виде ультрадисперсного аэрозоля как доказательство биологической адекватности данной модели острого легочного повреждения.

### Материалы и методы

Эксперимент проводили на 24 нелинейных белых крысах породы «вистар» массой от 220 до 240 г в соответствии этическими нормами, изложенным в Международном кодексе медицинской этики (1994), Хельсинской декларации (2000) и Директивах Европейского сообщества 86/609ЕЕС. Животных разделили на две группы. В опытной группе 18 животных помещали на 1 ч в затравочную камеру, содержащую 100 л воздуха в смеси с водно-солевым аэрозолем ЛПС *Escherichia coli* O128 : B12 (Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA). Микроаэрозольные капли со средним диаметром 4 мкм, содержащие ЛПС, получали с помощью компрессорного ингалятора CN-231 (Japan). Частицы такого размера способны свободно проникать не только в верхние дыхательные пути, но и в альвеолярный аппарат легких крысы в процессе спонтанного дыхания. Условия опыта были подобраны так, что за время нахождения в камере каждое животное инспирировало ЛПС в дозе порядка 1 мг/кг массы. По 6 животных опытной группы вывели из эксперимента через 3, 8 и 24 ч после ингаляции передозировкой «Золетила» (120 мг/кг массы). Контрольную группу составили 6 крыс, которые находились в обычных условиях вивария без каких-либо воздействий и были выведены из эксперимента в те же сроки.

Забор крови у выбранных животных осуществляли стерильной иглой из подязычной вены. Тканевые гомогенаты легких приготавливали предварительно простерилизованными (60 мин при 210 °С) инструментами и посудой, используя апирогенный фосфатный бисолевой буфер с pH 7,20. Весь забранный материал фракционировали на микроцентрифуге ScanSpeed mini BLUE (Denmark) в течение

15 мин при 3 000 об/мин (сыворотка крови) или 13 500 об/мин (тканевые гомогенаты легких).

Концентрацию ЛПС определяли в надосадочной жидкости турбидиметрическим методом с использованием ЛАЛ-реактива Pyrotell-T (Associates of Cape Code inc., USA) на микропланшетном ридере Bio-Rad (iMark, Japan). В сыворотке крови концентрацию выражали в нг/мл жидкости, в тканевых гомогенатах легких – в нг/г полусырой массы органа.

Для патоморфологического анализа кусочки легких размером 5×10×10 мм фиксировали в течение 48 ч в 10%-м растворе нейтрального формалина. После фиксации и заливки в парафин с блоков готовили срезы толщиной 5–7 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином по общепринятой методике [2]. Исследование и оцифровку микропрепаратов проводили на микроскопе БИМАМ Р-13 (ЛОМО, Россия) с фотокамерой ТК-С620Е JVC (Japan). Для морфометрического исследования использовали автоматическую систему обработки изображений «Видеотест-Морфо 3.0» (Россия). Рассчитывали объемные доли (%) воздуха альвеол, бронхиального экссудата, поверхностные плотности эпителиоцитов бронхов и альвеоцитов (1/мм<sup>2</sup>).

Иммуногистохимическое исследование проводили на срезах с тех же парафиновых блоков с использованием реактивов компании DakoCytomation (Дания). Визуализацию проводили с помощью непрямого иммунопероксидазного метода с высокотемпературной и ферментной демаскировкой антигенов, использовали позитивные и негативные контроли антигенов, а также негативные контроли антител. Численную плотность бронхиальных и альвеолярных МФ (1/мм<sup>3</sup>), а также интенсивность макрофагальных реакций оценивали при визуализации CD68-позитивных клеток. Моноклональные антитела к десмину (клон D33), помимо миоцитов стенок бронхов и сосудов, позволяли маркировать миофибробласты межальвеолярных перегородок и, таким образом, отслеживать инициальные моменты фиброгенеза в ткани легких после их токсического повреждения. Использование антител к альфа-антитрипсину позволяло выявить тканевое распределение и клетки-источники этой антипротеазы, играющих существенную роль в инактивации протеолитических ферментов,

а также балансе цитокинов и гормонов пептидной природы в тканях легких.

Обработку количественных данных проводили непосредственно из общей матрицы данных Excel 7.0 (Microsoft, USA) с привлечением возможностей программ Statistica 6.0 (StatSoft Inc., USA), с учетом общепринятых требований для медико-биологических исследований. Для анализа различий между выборками использовали критерий Манна-Уитни.

### Результаты и их обсуждение

Ингаляция бактериального ЛПС сопровождалась повышением его концентрации в тканях легких через 3 ч в 18,2 раза ( $P < 0,001$ ) с последующим постепенным уменьшением. К 8 ч после ингаляции концентрация ЛПС в ткани легких превышала величину показателя у крыс контрольной группы в 3,35 раза ( $P < 0,01$ ), а к 24 ч с начала эксперимента – практически нормализовалась. При исследовании сыворотки крови, в которой у животных контрольной группы обнаруживалась лишь следовая концентрация ЛПС, удавалось зафиксировать незначительное повышение содержания ЛПС к 3 ч эксперимента. Это свидетельствовало в пользу исключительно ингаляционного поступления токсина в ткани легкого и одновременно не позволяло рассматривать данное состояние как системную эндотоксемию (см. табл. 1).

К 3 ч после ингаляции ЛПС в легких животных морфологически регистрировали признаки острого токсического повреждения. Просветы бронхов были большей частью свободными с небольшим количеством слущенного эпителия, слизисто-белкового экссудата и лейкоцитов, преимущественно лимфоцитов и МФ.

Со стенок бронхов эпителий был местами десквамирован, сосуды их стенки были расширены, периваскулярно наблюдались скопления МФ и лимфоцитов. Часть альвеол была эмфизематозно расширена до разрывов со слиянием соседних альвеол, часть – с уменьшенным просветом за счет увеличения объема межальвеолярных перегородок. Подобный дистелектаз был обусловлен неравномерным утолщением межальвеолярных перегородок в результате их отека, лейкоцитарной (преимущественно – лимфоцитарной) инфильтрации и пол-

нокровия микроциркуляторного русла, но просвет большинства альвеол был чист. В части кровеносных капилляров обнаруживались скопления агрегатов эритроцитов.

Через 8 ч после ингаляции просветы бронхов были большей частью свободными, но их эпителий десквамирован на протяжении, в отдельных бронхах обнаруживались до 30 % диаметра скопления белкового экссудата, окруженного полиморфно-ядерными лейкоцитами, и слущенный эпителий. Местами в стенке бронхов фиксировались явления эритро- и лейкодиapedеза, активные скопления МФ. Выявлялось резкое утолщение межальвеолярных перегородок за счет их отека и лимфоцитарной инфильтрации, полнокровие микроциркуляторного русла, диapedезные кровоизлияния вокруг сосудов. Повсеместно, но более под плеврой, обнаруживались небольшие фокусы ателектаза. Часть альвеол была эмфизематозно расширена, в просвете других выявлялся белковый экссудат со значительным количеством клеток, в том числе и МФ. Эпителий альвеол находился в состоянии дистрофии и час-

точно отслаивался. Нейтрофильные и лимфоцитарные инфильтраты в отечных межальвеолярных перегородках были весьма многочисленны. Наблюдалась ярко выраженная реакция альвеолярных МФ в виде увеличения их размеров, вакуолизации цитоплазмы и формирования скоплений в межальвеолярной перегородке. В части кровеносных капилляров просвет был спавшимся, в других – резко расширенным и заполненным агрегированными эритроцитами.

Морфология ткани легких в период между 8 и 24 ч существенно не различалась. Достоверных признаков активации фиброгенеза в легких, с учетом продолжительности эксперимента, ни в одном случае не наблюдали.

Полученные данные свидетельствуют о том, что ингаляция ЛПС сопровождается яркими изменениями со стороны паренхимы легких, основу которых составляют сосудистые и клеточные реакции.

Количественные показатели легочного повреждения при ингаляционном поступлении ЛПС приведены в таблице 2.

Таблица 1

**Концентрация бактериального липополисахарида в тканях легких и сыворотке крови белых крыс после его 1-часовой ингаляции в виде ультрадисперсного аэрозоля, М ± m**

Материал	Контрольная группа	Опытная группа		
		3 ч	8 ч	24 ч
Ткани легких	2,45 ± 0,38	44,71 ± 2,70 *	8,20 ± 1,15 *	3,22 ± 0,27
Сыворотка крови	Следы (<0,025)	0,34 ± 0,05 *	Следы (<0,025)	Следы (<0,025)

Примечание. \* – достоверные различия с величиной показателя в контрольной группе.

Таблица 2

**Показатели морфометрии легочной ткани крыс при ингаляции бактериального липополисахарида в виде ультрадисперсного аэрозоля, М ± m**

Показатели	Контрольная группа	Опытная группа		
		3 ч	8 ч	24 ч
Объемная доля бронхиального экссудата, %	0,6 ± 0,1	3,7 ± 0,2 *	4,3 ± 0,2 *	2,5 ± 0,1 *
Поверхностная плотность эпителия бронхов, 1/мм <sup>2</sup>	9 864 ± 429	9 203 ± 379 *	7 558 ± 326 *	7 411 ± 357 *
Численная плотность бронхиальных макрофагов, 1/мм <sup>3</sup>	474 ± 19,3	560 ± 26,3	771 ± 39,8	801 ± 44,5
Объемная доля воздуха альвеол, %	60,2 ± 2,6	45,1 ± 2,1 *	36,1 ± 2,3 *	31,0 ± 1,8 *
Поверхностная плотность альвеоцитов, 1/мм <sup>2</sup>	8 432 ± 313	6 805 ± 489 *	6 028 ± 318 *	5 251 ± 283 *
Численная плотность альвеолярных макрофагов, 1/мм <sup>3</sup>	163 ± 9,3	366 ± 15,8 *	412 ± 18,8 *	447 ± 20,1 *

Примечание. \* – достоверные различия с величиной показателя в контрольной группе.

Объемная доля бронхиального экссудата увеличивалась за время эксперимента более чем семикратно, достигая максимума через 8 ч с момента ингаляции ЛПС и несколько снижаясь к 24 ч (все  $P < 0,001$ ). Следовательно, поступление в дыхательные пути ЛПС сопровождалось увеличением бронхиальной и альвеолярной секреции в совокупности с уже описанным повреждением бронхиальной стенки и сосудистыми реакциями, приводящим к формированию бронхиального экссудата.

Поверхностная плотность эпителиоцитов бронхов через 3 ч с момента завершения ингаляции ЛПС практически не менялась, достоверное уменьшение величины показателя было зафиксировано через 8 ч (в 1,31 раза,  $P < 0,05$ ) и 24 ч (в 1,33 раза,  $P < 0,05$ ) после ингаляции. При этом если на более ранних сроках эксперимента снижение поверхностной плотности клеток бронхиального эпителия в большей мере объяснялось их набуханием и появлением складчатости эпителиального слоя, то к 24 ч с момента ингаляции преобладали истинное устранение клеток из эпителиального слоя и его дезинтеграция.

Проникновение ЛПС в ткани легких сопровождалось увеличением численной плотности бронхиальных МФ начиная с 8 ч от завершения ингаляции: в 1,63 раза на этом сроке ( $P < 0,01$ ), в 1,69 раза – к 24 ч ( $P < 0,01$ ). Основной причиной данного изменения стало появление новых скоплений МФ в стенке бронхов и увеличение численности уже имеющих групп МФ, что может быть объяснено, с учетом динамики эксперимента, исключительно миграцией моноцитов из кровотока.

Воздействие ЛПС сопровождалось значительным снижением воздушности легочной ткани. К 3 ч объемная доля воздуха альвеол уменьшалась в 1,3 раза ( $P < 0,05$ ), к 8 ч – в 1,7 раза ( $P < 0,05$ ), к 24 ч – почти вдвое ( $P < 0,01$ ). Выявленные изменения стали следствием сосудистых нарушений, нарастающего тканевого отека, а к 24 ч с момента ингаляции – клеточной экссудации в межальвеолярные перегородки.

В альвеолах поверхностная плотность клеток эпителия прогрессивно уменьшалась во время эксперимента, так что величина показателя была ниже значения в контрольной группе к 3 ч после ингаляции ЛПС в 1,24 раза

( $P < 0,05$ ), к 8 ч – в 1,40 раза ( $P < 0,05$ ), к 24 ч – в 1,61 раза ( $P < 0,01$ ). Эта динамика явилась отражением повреждения альвеолярного эпителия, которое не прекращалось достаточно длительное время уже в отсутствие высокого содержания ЛПС во вдыхаемом воздухе, тканях легких и системном кровотоке.

Уже с первых часов эксперимента в межальвеолярных перегородках наблюдались скопления МФ с гиперэкспрессией CD-68, которые располагались группами по 2–5 клеток. В последующем существенных изменений в их численности и характере тканевого распределения, по сравнению с более ранними сроками опыта, не происходило. Численная плотность альвеолярных МФ возрастала через 3 ч с момента завершения ингаляции ЛПС в 2,25 раза, к 8 ч – в 2,53 раза, к 24 ч – в 2,74 раза (все  $P < 0,001$ ). Основной причиной данных изменений было активное проникновение моноцитов из кровотока, что подтверждалось обнаружением маргинации этих клеток в просветах расширенных капилляров межальвеолярных перегородок.

Как известно, активированные МФ выделяют комплекс биологически активных веществ (фактор некроза опухоли  $\alpha$ , интерлейкины, интерфероны), которые опосредуют большинство цитотоксических и провоспалительных реакций тканей в ответ на поступление в них ЛПС. Активация МФ, а также массивная миграция гранулоцитов и особенно лимфоцитов из кровотока усугубляют картину сосудистых нарушений и вызывают дополнительное повреждение эпителия и эндотелиальных клеток [3; 9].

Альфа-антитрипсин в тканях легких животных контрольной группы и к 3 ч после ингаляции ЛПС визуализировался по поверхности бронхиальной выстилки и в бронхоальвеолярной жидкости, в том числе в альвеолярном экссудате. Высокая экспрессия антитрипсина выявлялась в клетках, где он синтезируется: эпителиоцитах 2-го типа и бронхиальном эпителии. На более поздних сроках эксперимента легочная ткань почти полностью утрачивала альфа-антитрипсин, за исключением участков эпителия бронхов в прикорневых областях легких, где выявлялись небольшие количества этой антипротеазы. Выявленное уменьшение активности альфа-антитрипсина,

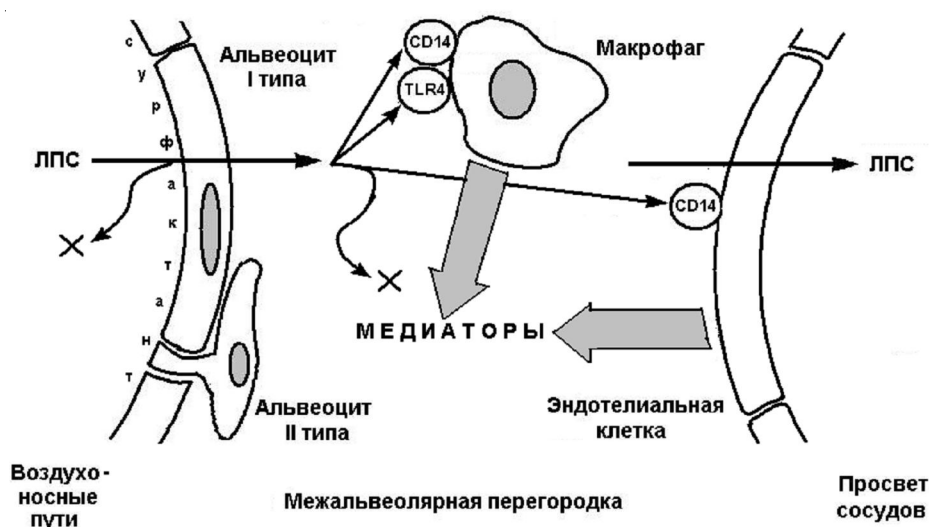
регулирующего в легких время циркуляции цитокинов, пептидных гормонов, а также активность ферментов тканевого разрушения при острой патологии (катепсинов, фосфолипаз) и сигнальных киназ, мы рассматриваем как один из негативных моментов острого ингаляционного отравления. Инактивация альфа-антитрипсина, характерная для поздних сроков острого ингаляционного отравления, может рассматриваться в качестве еще одного признака необратимости последствий острого токсического повреждения легких данной интенсивности.

Десминпозитивные клетки в легких крыс контрольной группы выявлялись исключительно в составе мышечных слоев бронхов и сосудов малого круга. Начиная с самых ранних сроков эксперимента в опытной группе они обнаруживались не только в разрыхленных и местах поврежденных мышечных слоях артерий и бронхов, но и вокруг них. В межальвеолярных перегородках такие клетки образовывали группы по 5–6, окруженные макрофагами. Именно такие скопления были нами рассмотрены как потенциальные очаги формирования заместительного пневмофиброза при остром токсическом повреждении.

С учетом изложенных фактов и данных научной литературы об отдельных межклеточных взаимодействиях в легких [6; 11; 15], общие черты ингаляционного повреждения

легких ЛПС в нашей модели можно представить следующим образом (см. рисунок).

Токсический агент в виде ультрадисперсного аэрозоля проникает непосредственно в просвет альвеол. Частичная его задержка в слое сурфактанта сопровождается удалением части ЛПС в бронхоальвеолярную жидкость, связыванием и инактивацией клеток и веществ в составе этой жидкости. Поступивший в ткани ЛПС практически не взаимодействует с альвеоцитами, но оказывает мощное воздействие на МФ (рецепторы CD14 и TLR4) и эндотелий сосудов (CD14). Именно эти клетки становятся источником нарастающей лавины медиаторов острого токсического повреждения: фактора некроза опухоли альфа, интерлейкинов, простаноидов и оксида азота. Молекулы ЛПС, не нашедшие рецепторы на мембране клеток-мишеней, быстро связываются со специфическими белками, иммуноглобулинами, удаляются в кровоток или разрушаются на месте тканевыми ферментами. Медиаторы опосредуют повреждение альвеоцитов I типа, активацию синтеза сурфактанта альвеоцитами II типа, по принципу положительной обратной связи воздействуют на МФ и эндотелиальные клетки. Сосудистые реакции и повреждение клеток альвеолярной выстилки приводят в итоге к нарушениям эластичности межальвеолярных перегородок, ателектазам и нарушениям легочного газообмена.



Взаимодействие липополисахарида с рецепторами клеток-мишеней в межальвеолярной перегородке и выброс медиаторов в модели острого легочного повреждения

**Заклучение**

Полученные данные свидетельствуют о том, что однократная ингаляция ультрадисперсного аэрозоля бактериального ЛПС сопровождается в эксперименте развитием типичного острого токсического повреждения легких, которое по своим характеристикам подходит в качестве адекватной модели соответствующей нозологии у человека. Количественное морфологическое исследование является достаточно информативным методом для оценки состояния легочной ткани при таком варианте повреждения, а его дополнение методами иммуногистохимии позволяет дополнительно отслеживать в динамике отдельные механизмы легочного повреждения и компенсаторные процессы в ответ на него. Наиболее яркими проявлениями этого повреждения в респираторных отделах легких являются сосудистые реакции, реакции альвеолярных макрофагов, в несколько меньшей степени – повреждение собственно альвеолярного эпителия. Острое легочное повреждение в данной модели сопровождается ранней миграцией миофибробластов в межальвеолярные перегородки, а также инактивацией альфа-антитрипсина в легочной ткани. Представленная модель может быть рекомендована для изучения патогенеза и возможных путей фармакологической коррекции повреждения легочной ткани, вызванной аэрозольным проникновением бактериальных токсинов.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Войтковская, К. С. Синдром острого повреждения легких: определение, патогенез, экспериментальные модели и роль мезенхимальных стволовых клеток при лечении животных / К. С. Войтковская, А. Л. Черняев // Вестник современной клинической медицины. – 2012. – Т. 5, № 2. – С. 60–67.
2. Коржевский, Д. Э. Основы гистологической техники / Д. Э. Коржевский, А. В. Гиляров. – СПб. : СпецЛит, 2010. – 95 с.
3. Косырева, А. М. Половые различия реакции иммунной системы и легких при экспериментальном остром эндотоксикозе / А. М. Косырева, Е. Ю. Симонова, О. В. Макарова // Бюллетень экс-

периментальной биологии и медицины. – 2012. – Т. 153, № 3. – С. 318–321.

4. Писарев, В. Б. Бактериальный эндотоксикоз: взгляд патолога / В. Б. Писарев, Н. В. Богомолова, В. В. Новочадов. – Волгоград : Изд-во ВолГМУ, 2008. – 320 с.

5. Фролов, Д. М. Структурные изменения в легких при аэрозольном поступлении в организм липополисахарида, диспергированного в гидрофобной и водной фазе / Д. М. Фролов, А. Ю. Алексеенко, В. В. Новочадов // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 10 (2). – С. 345–348.

6. Cañadas, O. Bacterial lipopolysaccharide promotes destabilization of lung surfactant-like films / O. Cañadas, K. M. W. Keough, C. Casals // Biophys J. – 2011. – Vol. 100, № 1. – P. 108–116.

7. Chronic LPS inhalation causes emphysema-like changes in mouse lung that are associated with apoptosis / D. M. Brass [et al.] // Am. J. Respir Cell Mol. Biol. – 2008. – Vol. 39, № 5. – P. 584–590.

8. Comparative airway inflammatory response of normal volunteers to ozone and lipopolysaccharide challenge / M. L. Hernandez [et al.] // Inhal. Toxicol. – 2010. – Vol. 22, № 8. – P. 648–656.

9. Differential inflammatory response to inhaled lipopolysaccharide targeted either to the airways or the alveoli in man / W. Möller [et al.] // PLOS One. 2012. – Vol. 7, № 4. – e33505.

10. Duquenne, P. Measurement of endotoxins in bioaerosols at workplace: a critical review of literature and a standardization issue / P. Duquenne, G. Marchand, C. Duchaine // Ann. Occup. Hyg. – 2013. – Vol. 57, № 2. – P. 137–172.

11. Endotoxin-induced translocation of interleukin-6 from lungs to the systemic circulation / E. Tamagawa [et al.] // Innate Immunity. – 2009. – Vol. 15. – P. 251–258.

12. Liebers, V. Health effects due to endotoxin inhalation (review) / V. Liebers, M. Raulf-Heimsoth, T. Brüning // Arch. Toxicol. – 2008. – Vol. 82, № 4. – P. 203–210.

13. Pneumoproteins in sewage workers exposed to sewage dust / K.K. Heldal [et al.] // Int. Arch. Occup. Environ. Health. – 2013. – Vol. 86, № 1. – P. 65–70.

14. Rylander, R. Endotoxin in the environment-exposure and effects / R. Rylander // J. Endotoxin Res. – 2002. – Vol. 8. – P. 241–252.

15. Surfactant lipids regulate LPS-induced interleukin-8 production in A549 lung epithelial cells by inhibiting translocation of TLR4 into lipid raft domains / W. Abate [et al.] // J. Lipid Res. – 2010. – Vol. 51, № 2. – P. 334–344.

**MODELING AN ACUTE LUNG INJURY BY INHALATION  
OF LIPOPOLYSACCHARIDE-CONTAINING ULTRAFINE AEROZOLES****Novochadov Valery V.**

MD, Professor, Head of Department of Bioengineering and Bioinformatics,  
Volgograd State University  
novovv@rambler.ru, biobio@volsu.ru  
Prospect Universitetsky, 100, 400062 Volgograd, Russian Federation

**Frolov Dmitry M.**

Postgraduate Student, Department of Bioengineering and Bioinformatics,  
Volgograd State University  
frolov.volsu@gmail.com, biobio@volsu.ru  
Prospect Universitetsky, 100, 400062 Volgograd, Russian Federation

**Abstract.** We try to initialize the acute toxic lung injury by single lipopolysaccharide *E. coli* O128 : B12 inhalation in 18 rats vs 6 control ones. The ultrafine aerosol was used for better delivery of toxin into respiratory apparatus of lungs. The dynamics of lipopolysaccharide and morphology of the lung through 3, 8 and 24 hours after inhalation was investigated. The classic histology data, and the estimation of surface epithelial density in bronchial wall and alveoli ( $1/\text{mm}^2$ ), bronchial exudate volume and air volume (%), volume density of bronchial and alveolar macrophages ( $1/\text{mm}^3$ ) have evidenced the development of acute lung injury. In addition to these methods, we applied immunohistochemical assays to reveal the cells and structures expressed CD68, desmin, and alpha-antitrypsin. An atelectasis, exudation in bronchial lumen, intensity and dynamics of vascular and macrophage reactions, damage to the bronchial and alveolar epithelium, and also early migration of myofibroblasts into intraalveolar septa, and suppression of alpha-antitrypsin can be attributed to the morphological criteria of acute lung damage in the presented model. The developed model adequately reflects relevant processes in acute toxic lung injury in humans.

**Key words:** lipopolysaccharide, inhalation, lungs, morphology, endotoxemia.