

Aktywność fosfatazy kwaśnej, fosfatazy zasadowej i dehydrogenazy kwasu mlekowego w popłuczynach oskrzelowo-pęcherzykowych (POP) szczurów z doświadczalnym zapaleniem oskrzeli wywołanym dwutlenkiem siarki

MARYLA KRASNOWSKA, ARTUR KWAŚNIEWSKI, JERZY RABCZYŃSKI, JAN JÓZEF KURYSZKO

Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych i Alergologii Akademii Medycznej, ul. Traugutta 57/59, 50-417 Wrocław

Celem pracy było zbadanie wpływu wywołanego SO₂ zapalenia oskrzeli u szczurów na aktywność enzymów: fosfatazy kwaśnej, fosfatazy zasadowej i dehydrogenazy kwasu mlekowego w popłuczynach oskrzelowo-pęcherzykowych.

Badania przeprowadzono u 60 zwierząt, które narażone były na wdychanie dwutlenku siarki w ciągu 12 tygodni. U 30 szczurów po tym okresie wykonano badanie popłuczyn oskrzelikowych oraz preparowano oskrzela i tkankę płucną. W popłuczynach badano aktywność enzymów - fosfatazy zasadowej, fosfatazy kwaśnej i dehydrogenazy mleczanowej. W osadzie obliczano liczbę komórek i oceniono ich skład celem histologicznej oceny zmian zapalnych. U pozostałych 30 szczurów badania przeprowadzono po okresie 3 tygodni od ustania narażenia na SO₂. Grupę kontrolną stanowiło 5 zwierząt.

Stwierdzono, że SO₂ spowodował objawy uszkodzenia i zapalenia dróg oddechowych, które utrzymywały się mimo zaprzestania drażnienia. Wykazano wzrost aktywności badanych enzymów w popłuczynach. Aktywność ta zmieniała się w czasie i nie była równoległa.

Przewlekła obturacyjna choroba płuc (POChP) jest jedną z głównych przyczyn zachorowań i zgonów na świecie. Jest też powodem rosnącej liczby hospitalizacji i absencji chorobowej [12]. Wynika z tego, że POChP stanowi poważny problem medyczny i społeczny. Aczkolwiek istnieje duża lista prawdopodobnych czynników ryzyka wystąpienia choroby, to pewnymi wydają się trzy: palenie papierosów, zanieczyszczenie pyłowe i gazowe atmosfery oraz wrodzony niedobór alfa 1-antytrypsyny.

Mimo dużej liczby badań klinicznych i doświadczalnych i liczego piśmiennictwa z tym związanego, nasza wiedza o etiologii i patomechanizmie choroby jest wciąż niepełna. Związek między paleniem papierosów a POChP został udowodniony, natomiast ciągle dyskutuje się nad zależnością przyczynową między ekspozycją, głównie zawodową, choć nie tylko, na działanie dymów, gazów i par a wystąpieniem POChP [17].

Doświadczalne zapalenie oskrzeli u zwierząt jest wykorzystywane do prowadzenia badań nad patomechanizmem choroby. Mimo zrozumiałych ograniczeń we wnioskowaniu i przenoszeniu wyników badań na zwierzętach na ludzi, to nadal postępowanie takie ma istotne znaczenie w poznawaniu mechanizmów choroby.

W niniejszej pracy wywoływaliśmy zapalenie oskrzeli u szczurów poprzez przewlekłe narażenie zwierząt

na wdychanie dwutlenku siarki (SO₂). Gaz ten wybraliśmy nieprzypadkowo - stanowi on ważny składnik zanieczyszczeń atmosferycznych i jest często wymieniany wśród czynników wywołujących przewlekłe zapalenie oskrzeli. W piśmiennictwie są przedstawione badania z doświadczalną indukcją choroby u zwierząt, zwłaszcza szczurów, z użyciem tego gazu [15,18]. W pracy posłużyliśmy się własnym modelem stosując zaprojektowane przez nas komory ekspozycyjne [11].

Celem pracy było zbadanie czy wywołane przez SO₂ zapalenie oskrzeli u szczurów, potwierdzone obrazem cytologicznym i histologicznym, wpływa na aktywność niektórych enzymów badanych w popłuczynach oskrzelowo-pęcherzykowych (POP). Badania miały również określić, czy istnieje zależność między zmianami morfologicznymi a aktywnością enzymów oraz stwierdzenie, jaką zmiany te mają dynamikę.

MATERIAŁ I METODY

Do badań użyto 65 szczurów rasy Buffalo, płci męskiej. Pięć szczurów stanowiło grupę kontrolną. Pozostałe 60 szczurów w ciągu 12 tygodni przez godzinę dziennie, w czterech turach po 15 sztuk, trzymany były w specjalnie do tego celu zaprojektowanych szczelnych komorach z mataplexy. Do komory wpuszczano SO₂

o średnim stężeniu 30-40 ppm. Szczegóły techniczne dotyczące metody zostały przedstawione wcześniej [11]. Po 12 tygodniach grupę 30 szczurów usypiano i skrwawiano. Wykonywano płukanie oskrzelowo-pęcherzykowe, a uzyskany płyn w ilości 5-8 ml wirowano. Z osadu robiono rozmazy, barwiono je, a następnie w mikroskopie optycznym liczono komórki. Obliczając skład procentowy brano pod uwagę także komórki nabłonka. Zastosowano wskaźnik, który jest ilorazem poszczególnych komórek i komórek macierzystych nabłonka. Przyjęto, że stosunek komórek napływowych (t.j. makrofagów, neutrofilów, eozynofili i limfocytów) do komórek nabłonka świadczy o stopniu nasilenia procesu zapalnego.

Barwione preparaty histologiczne oskrzeli i płuc oceniane były pod względem obecności zmian destrukcyjnych i zapalnych. Klasyfikowano je wg czterostopniowej skali: bez zmian /0/, zmiany niewielkie /+/, umiarkowane /++/ i znaczne natężenie zmian /+++/. Klasyfikację taką wzorowano na pracy Smith'a i wsp. [18]. Ocena dotyczyła nabłonka oskrzeli, jego wysokości, obecności rąbka migawkowego, ubytków nabłonka, metaplastji z podkreśleniem ogniskowego lub rozlanego charakteru zmian.

W preparatach histologicznych dotyczących tkanki okołoskrzelowej i płuc zwracano uwagę na nacieki zapalne, rozplem struktur gruczołowo-limfatycznych, zmiany włókniste.

W POP określano aktywność fosfatazy kwaśnej (ACP), fosfatazy zasadowej (AP) i dehydrogenazy kwasu mlekowego (LDH). Badania przeprowadzano w dniu pobrania materiału na analizatorze biochemicznym COBAS-MIRA f-my Hoffman la Roche z użyciem standardowych odczynników. Wyniki przedstawiono w U/l.

Pozostałe 30 szczurów (grupa II) żyło jeszcze 3 tygodnie w normalnych warunkach, bez ekspozycji na drażniące działanie SO_2 . Po tym czasie zostały one poddane takiej samej procedurze doświadczalnej jak poprzednia grupa.

Analizę statystyczną przeprowadzono posługując się komputerowym systemem MEDISTAT wykorzystując dla niepowiązanych grup test t-Studenta lub C-Cochrana i Coxa. Przyjęto poziom istotności $\alpha = 0,05$.

WYNIKI

Obraz cytologiczny osadu POP

W grupie szczurów drażnionych SO_2 istotnie zwiększyła się liczba komórek napływowych - makrofagów, neutrofilów, eozynofili i limfocytów w porównaniu ze szczurami kontrolnymi, u których dominowały nabłonki (ponad 90%). Dotyczyło to szczurów I jak i II grupy. Zaisntniałe różnice w liczbie komórek po ekspozycji na gaz wyraża dobitniejszy wskaźnik komórkowy (tab. I i II).

Tabela I. Odsetkowy skład komórkowy w popłuczynach oskrzelowo-pęcherzykowych

Analizowane komórki	Badane grupy				
	K x (%) ±SD	I x (%) ±SD	K / I analiza stat. (p)	II x(%) ±SD	K / II analiza stat.(p)
Komórki nabłonka	91,4 ±2,05	26,8 ±10,68	<0,05	28,93 ±12,37	<0,05
Makrofagi	4,0 ±1,41	23,8 ±5,3	< 0,05	24,82 ±4,44	<0,05
Neutrofile	2,4 ±0,48	31,67 ±5,25	<0,05	31,18 ±4,59	<0,05
Eozynofile	0,4 ±0,49	5,9 ±2,6	< 0,05	5,8 ±2,86	<0,05
Limfocyty	1,6 ±0,49	11,5 ±5,1	<0,05	9,29 ±3,6	<0,05

Kontrola - szczury nie drażnione

Grupa I - szczury drażnione SO_2 przez 12 tygodni

Grupa II - szczury drażnione SO_2 przez 12 tygodni, ale materiał pobrany po 15 tyg. eksperymentu

Tabela II. Iloraz komórek napływowych do komórek nabłonka oskrzelowego w popłuczynach oskrzelowo-pęcherzykowych

Badana grupa	Makrofagi do kom. nabłonka	Neutrofile do kom. nabłonka	Eozynofile do kom. nabłonka	Limfocyty do kom. nabłonka
Kontrola	0,043	0,026	0,004	0,017
Grupa I	0,89	1,18	0,22	0,43
Grupa II	0,86	1,08	0,20	0,32

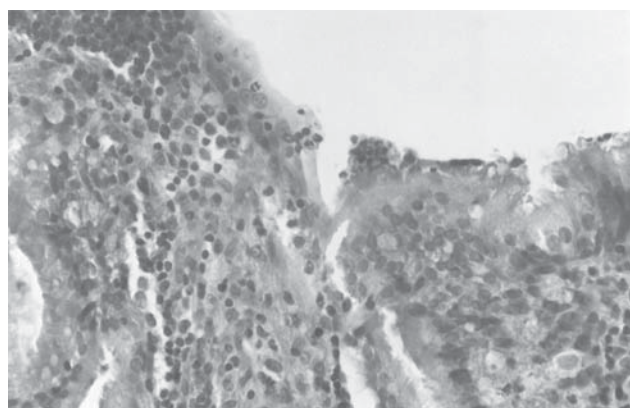
Kontrola - szczury nie drażnione

Grupa I - szczury drażnione SO_2 przez 12 tygodni

Grupa II - szczury drażnione SO_2 przez 12 tygodni, ale materiał pobrany po 15 tyg. eksperymentu

Obraz histologiczny oskrzeli i płuc

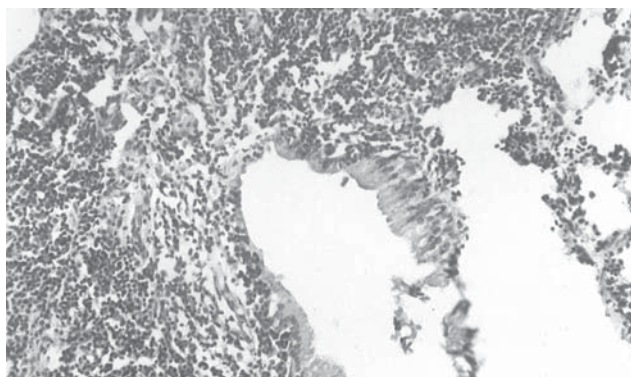
U szczurów badanych po 12 tygodniach doświadczenia obserwowano destrukcję nabłonka oskrzelowego, zanik migawek w różnym stopniu oraz nacieki limfocytarno-granulocytarne błony śluzowej oskrzeli (ryc.1).



Ryc. 1. Szczur drażniony SO_2 , materiał pobrany po 12 tyg. ekspozycji.

Wycinek z płuc. Widoczne nacieki limfocytarno-granulocytarne, odcinkowo wnikaające w nabłonek i powodujące jego destrukcję. Barwienie HE; powiększenie 220 x.

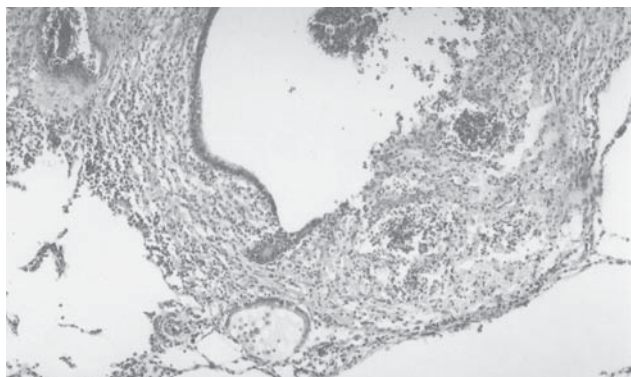
W pojedynczych preparatach notowano ropne nacieki wokół oskrzeli i zapalenie mięszu płuc (ryc. 2).



Ryc. 2. Szczur drażniony SO₂ - materiał pobrany po 12 tygodniach ekspozycji.

Wycinek z płuc. Widoczne oskrzele z częściowym zanikiem i destrukcją nabłonka z naciekami okołoskrzelowymi. Barwienie HE; powiększenie 180 x.

Preparaty uzyskane od szczurów po 3 tygodniach od zaprzestania drażnienia, wykazywały intensywniejsze i rozległe cechy zapalenia śluzówki z zanikiem nabłonka. W połowie preparatów obserwowano ropne zapalenie oskrzeli z tzw. adenozą w płucach oraz nową cechą - ogniska metaplazji płaskonabłonkowej (ryc. 3).



Ryc. 3. Szczur z grupy II - materiał pobrany 3 tygodnie po zaprzestaniu drażnienia SO₂.

Wycinek z płuc. Zdjęcie przewlekłego, ropnego zapalenia oskrzeli, częściowo z metaplazją płaskonabłonkową i całkowitą destrukcją nabłonka, włókniejąca adenoza. Barwienie HE; powiększenie ok 90 x.

Aktywność enzymów w POP

1. Fosfataza kwaśna (ACP)

W popłuczynach zdrowych szczurów aktywność enzymu wynosiła średnio 0,5 U/l. Po 12 tyg. drażnienia SO₂ stwierdzono znamieny wzrost aktywności do średnio 1,21 U/l. W badaniu przeprowadzonym w 15 tygodniu, tj. 3 tyg. po zaprzestaniu drażnienia oskrzeli, aktywność enzymu wróciła do normy.

2. Fosfataza zasadowa (AP)

Po 12 tyg. doświadczenia średnia aktywność enzymu 31,81 U/l nie różniła się od wyników grupy kontrolnej - 38,67 U/l. Po następnych 3 tygodniach nastąpił istotny wzrost aktywności i był on znamieny - 46,18 U/l.

3. Dehydrogenaza kwasu mlekowego (LDH)

Średnia aktywność w grupie zdrowych szczurów wynosiła 39,67 U/l. Po 12 tyg. nastąpił spadek do 27,27 U/l; nie był on jednak znamieny. W kolejnej grupie szczurów stwierdzono średnią aktywność enzymu - 56,00 U/L i w porównaniu do grupy I był to wzrost istotny. Wyniki badań enzymatycznych zestawiono w tabeli III.

Tabela III. Aktywność enzymów w popłuczynach oskrzelowo-pęcherzykowych

Enzymy	Kontrola śr.U/l ±SD	Grupa I śr.U/l ±SD	Grupa II śr.U/l ±SD
Fosfataza kwaśna (ACP)	0,5±0,24	1,21±0,38*	0,42±0,25 [#]
fosfataza zasadowa (AP)	38,67±2,63	31,81±8,33	46,18±33,6*
Dehydrogenaza kwasu mlekowego (LDH)	39,67±15,37	27,27±16,86	56,00±25,8 [#]

Kontrola - szczury nie drażnione

Grupa I - szczury drażnione SO₂ przez 12 tygodni

Grupa II - szczury drażnione SO₂ przez 12 tygodni, ale materiał pobrany po 15 tyg. eksperymentu

* różnica istotna (p<0,05) w porównaniu z grupą kontrolną

[#] różnica istotna (p<0,05) w porównaniu z grupą I

OMÓWIENIE

Aktywność niektórych enzymów w popłuczynach oskrzelowo-pęcherzykowych, podobnie jak napływ komórek, są dość często traktowane jako wskaźnik stanu zapalnego oskrzeli i płuc [1,4,8]. Drażniące, chorobotwórcze działanie związków krzemowych, azbestu, ozonu, miedzi i innych [2,3,9,10,14] odbija się na wzroście aktywności enzymów w popłuczynach, powoduje też zwiększenie bezwzględnej ilości komórek osadu, jak i zmianę ich składu procentowego. Napływ makrofagów, neutrofilów i limfocytów jest wyrazem uszkodzenia i procesu zapalnego, który może być wywołany różnymi czynnikami. Najczęściej ocenia się aktywność jednego enzymu. Prezentowane przez nas badania dotyczą zachowania się 3 enzymów, jak też, co dość istotne, ich dynamiki wynikającej ze stadium zmian oskrzelowych. Trwająca 3 miesiące ekspozycja na SO₂ spowodowała proces zapalny manifestujący się zmianami składu komórek w osadzie POP oraz obrazu morfologicznego błony śluzowej oskrzeli. Stwierdzono przede wszystkim znaczny wzrost liczby neutrofilów oraz makrofagów, choć obserwowano również istotny napływ eozynofili i limfocytów. Szczególnie wyraźnie obrazuje to zastosowany przez nas wskaźnik komórkowy przedstawiający stosunek komórek napływowych, tj. zapalnych do tubylczych komórek nabłonkowych. Po dalszych 3 tygodniach, gdy zwierzęta nie były już narażone na drażniący gaz, liczba komórek nie tylko nie malała, ale wręcz rosła, choć różnice te nie były statystycznie istotne.

Jeśli chodzi o morfologię oskrzeli, to dominującą zmianą była destrukcja nabłonka oskrzelowego z różnego stopnia zanikiem migawek. Obserwowano też neutrofilowe nacieki wokół oskrzeli. Trzy tygodnie później zmiany degeneracyjne nabłonka z jego zanikiem były nasilone. W połowie preparatów stwierdzono ropne nacieki

z ogniskami włóknienia tkanki okołoskrzelowej i tzw. adenozę płuc. Nową zmianą były ogniska metaplastji płaskonabłonkowej błony śluzowej.

W stosunku do kontrolnej grupy zdrowych zwierząt, u szczurów drażnionych SO₂ stwierdzano wzrost aktywności wszystkich trzech badanych enzymów. Wzrost ten jednak nie był równoległy. Aktywność ACP zwiększyła się znamienne po 12 tyg. eksperymentu, by po dalszych 3 tygodniach ulec normalizacji; inaczej zachowywały się pozostałe enzymy. Zarówno aktywność AP jak i LDH wzrosła po 3 tygodniach od zaprzestania ekspozycji na gaz. Trudno ocenić obserwowaną dynamikę zmian enzymatycznych. Nie tłumaczy ich obraz histologiczny oskrzeli. Tak po 12 jak i 15 tyg. stwierdzono objawy zapalne, choć zmieniła się ich jakość - wystąpiła metaplastja płaskonabłonkowa, będąca wyrazem zmian naprawczych nabłonków, ale też narosły nacieki zapalne wokół oskrzeli i w mięszu płuca. Henderson i wsp. [7] jak i Sendelbach i wsp. [16] negują patologiczny wpływ SO₂ na mięsz płuca. Nasze obserwacje nie potwierdzają tego. W interpretowaniu wyników naszego eksperymentu nie można posłużyć się analogiami do innych badań. Przede wszystkim stosowane eksperymentalnie czynniki drażniące wywołują różny ilościowo i jakościowo proces chorobowy. Ważne są dawki i czas drażnienia dróg oddechowych. Ponadto badania następstw drażnienia przeprowadzono w bardzo różnych odstępach czasowych oraz w innych warunkach (w naszym przypadku drażniącemu działaniu SO₂ towarzyszył wzrost stężeń takich gazów jak: CO, CO₂, NO i NO₂ oraz spadek O₂ jako wyraz przebywania w niewentylowanej komorze). I tak w doświadczeniu Sendelbach i wsp. [16] zmiany wywołymano jednorazową inhalacją siarczanem berylu; utrzymywały się one przez rok. Wiadomo też, że niektóre substancje, jak pył krzemu, powodują długotrwałe zmiany, co manifestuje się między innymi wzrostem aktywności enzymów w popłuczynach [19], gdy inne dają reakcje przemijające wraz z odstawieniem czynnika szkodliwego [20].

Powyższe eksperymenty rodzą następujące pytania: jakie struktury oskrzeli i płuc reagują zapalnie na określony czynnik chorobotwórczy oraz jakie jest źródło stwierdzanych w popłuczynach enzymów, cytokin, białek. Badania na zwierzętach [21], a następnie u ludzi [5,10] wykazały, że krótkotrwała ekspozycja, nawet na graniczne stężenia ozonu, inicjowała biochemiczne zmiany w płucach, których rezultatem było ostre uszkodzenie płuc, zapalenie, jak też długofalowe następstwa takie, jak włóknienie. Aris i wsp. [2] postulowali, że ozon powoduje również zmiany zapalne w drogach oddechowych (oskrzelach), nie tylko w mięszu płuc. Ponieważ POP reprezentują głównie dolne drogi oddechowe, wspomniani autorzy u zdrowych ochotników wystawionych na działanie ozonu wykonywali biopsję oskrzeli oraz płukanie izolowanego głównego oskrzela (proximal airway lavage - PAL) i na podstawie uzyskanych wyników stwierdzili, że ozon powoduje uszkodzenie i zapalenie nie tylko płuc ale i dróg oddechowych. Między innymi wykazali, że aktywność LDH była znamienne wyższa zarówno w popłuczynach z dużych jak i drobnych dróg oddechowych. Wydaje się, że podobne spektrum szkodliwego działania

wykazuje SO₂. Jest to ważne stwierdzenie, gdyż wynika z niego, że podobnie jak ozon również SO₂ częsty składnik zanieczyszczonej atmosfery, ma istotny udział w ostrych epizodach astmy i przewlekłego zapalenia oskrzeli, a być może i w inicjowaniu procesu chorobowego. Aktywność enzymów w popłuczynach pęcherzykowo-oskrzelowych zachowuje się rozmaicie - notowano wzrost w różnym czasie i utrzymujący się różnie długo. W niektórych publikacjach wykazywano spadek aktywności fosfatazy zasadowej w trakcie wystąpienia ostrej odpowiedzi zapalnej [8]. Takie zmiany w aktywności są trudne do wyjaśnienia przede wszystkim dlatego, że nie zawsze znane jest pochodzenie enzymu [6,9,13]. Ponieważ w czasie reakcji zapalnej dochodzi do znacznego napływu neutrofilów, które zawierają AP, można mniemać, że są one źródłem enzymu stwierdzanego w popłuczynach. Mogą także pochodzić z surowicy napływając wraz z przesiąkającymi białkami wskutek zwiększonej przepuszczalności bariery pęcherzykowo-kapilarnej. Tymczasem Henderson i wsp. [8] w 1995r. w starannie przeprowadzonym eksperymencie na szczurach, wykazali, że nie neutrofile lecz pneumocyty typu II są głównym źródłem AP. Stwierdzenie przez nas znamiennego wzrostu aktywności AP po 15 tyg., gdy największe zmiany z terenu nabłonków oskrzeli przeniosły się na tkankę płucną, może potwierdzać przypuszczenie, że enzym pochodzi głównie z nabłonków pęcherzyków. Oczywiście potrzebne są dalsze badania dotyczące dynamiki zachowania się enzymu w relacji do zmian histologicznych.

Separacja metodą fluorescencyjną komórek osadu POP pozwoliła na ich ocenę pod względem immunologicznych i czynnościowych właściwości. Wykazano między innymi, że makrofagi jak i komórki dendrytyczne zawierają ACP, ale dendrycytów w popłuczynach jest wielokrotnie mniej [6]. U palaczy stwierdzono wzrost aktywności ACP, podczas gdy w sarkoidozie wykazano znamienne spadek całkowitego enzymu, jak i jego podtypu TrACP [4]. Sugeruje się by wraz z oceną ilości limfocytów i stosunku CD4/CD8, badanie ACP w POP było wskaźnikiem klinicznego przebiegu sarkoidozy [4].

Ekspozycja na SO₂ wywołuje uszkodzenie i zapalenie oskrzeli, najprawdopodobniej również płuc i zmiany te utrzymują się dłużej. Trzy tygodnie po zaprzestaniu drażnienia oskrzeli objawy chorobowe nawet się nasiliły. Znalazło to odbicie zarówno w obrazie histologicznym, jak i w aktywności enzymów. Widzimy tu podobieństwo do wyników badań Sendelbacha i wsp. [16]. Autorzy ci po krótkotrwałej ekspozycji na czynnik szkodliwy, obserwowali wielomiesięczną dynamikę zmian histologicznych dróg oddechowych, jak też enzymatycznych. Ponieważ stwierdziliśmy, że aktywność enzymów jest różna w czasie, uważamy za celowe dokonywanie pomiarów aktywności równocześnie kilku enzymów.

Badania nasze wykazały, że długotrwałe wdychanie SO₂ powoduje u szczurów przewlekające się zmiany w drogach oddechowych i mięszu płuc. Ze względu na wagę problemu (zagrożenie człowieka tym zanieczyszczeniem środowiska), potrzebne są dalsze badania. Dysponowanie zwierzęcym modelem doświadczalnego zapalenia układu oddechowego umożliwia i ułatwia te badania.

WNIOSKI

1. Narażenie szczurów w ciągu trzech miesięcy na inhalację SO₂ wywołało objawy uszkodzenia i zapalenia dróg oddechowych. Zmiany te utrzymywały się, mimo że czynnik drażniący przestał działać.
2. W popłuczynach oskrzelowo-pęcherzykowych szczurów stwierdzono wzrost aktywności enzymów - AP, ACP, LDH. Aktywność enzymów zmieniała się w czasie, lecz nie była równoległa.

Piśmiennictwo

1. Antonini J.M., van-Dyke K., DiMatteo M., Reasor M.J.: Attenuation of acute effect of silica in rat lung by 21-aminosteroid, U74389G. *Inflammation* 1995, 19: 9-21.
2. Aris R.M., Christian D., Hearne P.Q., Kerr K., Finkbeiner W.E., Balmes J.R.: Ozone-induces airway inflammation in human subjects as determined by airway lavage and biopsy. *Am.Rev.Respir.Dis.* 1993, 148: 1363-72.
3. Begin R., Cantin A., Sebastien P.: Chrysotile asbestos exposures can produce an alveolitis with limited fibrosing activity in a subset of high fibre retainer sheep. *Eur.Respir.J.* 1990, 3: 81-90.
4. Capelli A., Lusuardi M., Carli S., Donner C.F.: Acid phosphatase (EC 3.13.2.) activity in alveolar macrophages from patients with active sarcoidosis. *Chest.* 1991, 99: 546-50.
5. Devlin R.B., McDonnell W.F., Mann R. i wsp.: Exposure of humans to ambient levels of ozone for 6,0 hours causes cellular and biochemical changes in the lungs. *Am.J.Respir.Cell Mol.Biol.* 1991, 4: 72-81.
6. Van Haarst J.M., Hoogsteden H.C., de Wit H.J., Vahoeven G.T., Havenith C.E., Drexhage H.A.: Dendritic cells and their precursors isolated from human bronchoalveolar lavage: immunocytologic and functional properties. *Am.J.Respir. Cell.Mol.Biol.* 1994, 11: 344-50.
7. Henderson R.F., Benson J.M., Hahn F.F. i wsp.: New approaches for the evaluation of pulmonary toxicity: Bronchoalveolar lavage analysis. *Fundam.Appl.Toxicol.* 1985, 5: 451-8.
8. Henderson R.F., Scott G.G., Waide J.J.: Source of alkaline phosphatase activity in epithelial lining fluid of normal and injured F344 rat lungs. *Toxicol.Appl.Pharmacol.* 1995, 134: 170-4.
9. Hirano S., Ebihara H., Sakai S., Kodama N., Suzuki K.T.: Pulmonary clearance and toxicity of intratracheally instilled cupric oxide in rats. *Arch.Toxicol.* 1993, 67: 312-7.
10. Koren H., Devlin R.B., Graham D., Mann R., McGee M.P. i wsp.: Ozone-induced inflammation in the lower airways of human subjects. *Am.Rev.Respir.Dis.* 1989, 139: 407-15.
11. Kwaśniewski A., Krasnowska M., Rabczyński J., Kuryszko J.: Doświadczalny model przewlekłego zapalenia oskrzeli. *Pneumonol.Alergol.Pol.* 1997, 65: 27-37.
12. Leowski J., Miller M.: Epidemiologia gruźlicy i chorób układu oddechowego. w: *Choroby układu oddechowego.* red. P.Krakówka, E.Rowińska-Zakrzewska, PZWL W-wa 1993.
13. Lipińska R., Sokolnicka I., Skopińska-Różewska E., Pirożyński M., Piasecki Z., Roszkowski W.: Analiza składu komórkowego płynu oskrzelowo-pęcherzykowego. I. Wykrywanie populacji makrofagów. *Pneumonol.Alergol.Pol.* 1991, 59: 51-5.
14. Mossman B.T., Jansen Y.M., Marsh J.P. i wsp.: Development and characterization of a rapid-onset rodent inhalation model of asbestosis for disease prevention. *Toxicol.Pathol.* 1991, 19: 412-8.
15. Sandstrom T., Stjerberg N., Andersson M.C. i wsp.: Is the short-term limit value for sulphur dioxide safe? Effects of controlled chamber exposure investigated with bronchoalveolar lavage. *Br. J. Ind. Med.* 1989, 46: 200-3.
16. Sendelbach L.E., Tryka A.F., Watschi H.: Progressive lung injury over a one year period after single inhalation exposure to beryllium sulfate. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1989, 139: 1003-9.
17. Siafakas N.M., Vermeire P., Pride N.B. i wsp.: European Respiratory Society Consensus Statement *Eur. Respir. J.* 1995, 8: 1398-1420.
18. Smith L.G., Busch R.H., Buschbom R.L., Cannon W.C.: Effects of sulfur dioxide or ammonium sulfate exposure, alone or combined, for 4 or 8 months on normal and elastase-impaired rats. *Environ.Res.* 1989, 49: 60-78.
19. Warheit D.B., Caracostas M.C., Bamberger J.R., Hartsky M.A.: Complement facilitates macrophage phagocytosis of inhaled iron particles but has little effect in mediating silica-induced lung inflammatory and clearance responses. *Environ.Res.* 1991, 56: 186-203.
20. Warheit D.B., Kellar K.A., Hartsky M.A.: Pulmonary cellular effects in rats following aerosol exposure to ultrafine Kevlar aramid fibrils: evidence for biodegradability of inhaled fibrils. *Toxicol.Appl.Pharmacol.* 1992, 116: 225-39.
21. Wilson D.W., Plopper C.G., Dungworth D.L.: The response of the macaque tracheobronchial epithelium to acute ozone injury. *Am.J.Pathol.* 1984, 116: 193-206.

Activity of alkaline phosphatase, acid phosphatase and lactate dehydrogenase in BALf of rats with sulphur dioxide - induced airway inflammation

MARYLA KRASNOWSKA, ARTUR KWAŚNIEWSKI, JERZY RABCZYŃSKI, JAN JÓZEF KURYSZKO

Summary

Experiment was carried out in 60 rats exposed to SO₂ for 12 weeks. In 30 rats, after this period, bronchoalveolar lavage fluid (BALf), bronchial and pulmonary tissues were examined. In BALf activity of alkaline phosphatase, acid phosphatase and lactate dehydrogenase were estimated and percentage of cells in BALf sediment was counted. Other 30 rats lived three weeks longer and the same estimations were carried out after this time. Five healthy rats (not exposed to SO₂) stood for the control group.

We found out, that inhalation of SO₂ caused lesions and inflammation in respiratory tract. This changes were present also after cessation of exposure. We demonstrated a raise in enzymes activity in BALf. It was changing in time and was not parallel for all enzymes.