

*Котович И.Л., Рутковская Ж.А., Таганович А.Д.*

## **ПРОДУКЦИЯ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА И АЗОТА КЛЕТКАМИ БРОНХО-АЛЬВЕОЛЯРНОЙ ЖИДКОСТИ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРОКСИИ**

*Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», Минск,  
Беларусь*

Интерес к проблеме влияния на организм гипероксии обусловлен, главным образом, использованием кислорода в терапевтических целях. В частности, сравнительно высокая концентрация кислорода содержится в воздухе, заполняющем легкие во время ИВЛ при выхаживании глубоконедоношенных детей с экстремально низкой массой тела при рождении. Для недоношенных детей характерна несформированность альвеолярного отдела легких, утолщение и отек стенок воздухопроводящих путей [1, 2]. Поэтому для обеспечения эффективного газообмена у них длительно применяют ИВЛ с высокой концентрацией кислорода во вдыхаемой смеси. Одним из распространенных последствий данной процедуры является повреждение легких и развитие бронхолегочной дисплазии. Механизм развития бронхолегочной дисплазии в таких условиях неизвестен. Это обстоятельство объясняет отсутствие на сегодняшний день эффективных подходов к предотвращению или ослаблению ее развития.

Одна из существующих гипотез основывается на том, что условия гипероксии провоцируют развитие окислительного стресса. При этом основное действие активных форм кислорода (АФК) направлено на индукцию процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в биологических мембранах, повреждение мембраносвязанных белков, ферментов и ДНК клеток. Тем не менее, в ряде исследований не было обнаружено стимуляции процесса ПОЛ и накопления продуктов липопероксидации в легких под действием высоких доз кислорода [3]. Кроме того, легкие имеют мощную систему антиоксидантной защиты, представленную внутри- и внеклеточными формами ферментов (супероксиддисмутазой - СОД, глутатионпероксидазой, каталазой), а также неферментативными антиоксидантами, важнейшим из которых является восстановленный глутатион [4]. В норме эти антиоксиданты позволяют эффективно обезвреживать свободные радикалы.

В физиологических условиях основными продуцентами активных форм кислорода в легких являются альвеолярные макрофаги. Вклад других клеток (эндотелиальных, гладкомышечных, альвеолоцитов II типа, фибробластов) обычно расценивается как незначительный [5]. При патологии генерацию активных форм кислорода осуществляют не только «резидентные» клетки легких, но и нейтрофилы, эозинофилы, лимфоциты, моноциты крови, принимающие участие

в развитии воспалительной реакции. При разных патологических процессах установить основной клеточный источник свободных радикалов в легких обычно не представляется возможным [6], тем не менее, роль АФК в развитии ряда заболеваний (астма, муковисцидоз, идиопатический легочный фиброз, саркоидоз), является общепризнанной [4, 7]. Важно отметить, что кислород-активирующая способность имеет значение не только для фагоцитирующих клеток при развитии противомикробного ответа, но и в процессах межклеточной сигнализации [8, 9].

Важная роль в продукции АФК принадлежит сложному мембранному комплексу – НАДФН-оксидазе [10, 11]. При соответствующей активации происходит сборка цитозольных и мембранных субъединиц фермента, и он катализирует реакцию окисления НАДФН до НАДФ<sup>+</sup> и одновременного одноэлектронного восстановления O<sub>2</sub> до O<sub>2</sub><sup>-</sup> (супероксидного анион-радикала). Супероксидный анион-радикал спонтанно или в результате ферментативных превращений преобразуется в пероксид водорода, который разрушается с участием каталазы. Функционирование НАДФН-оксидазного комплекса тесно связано с рецепторным аппаратом плазматических мембран [10]. Определенный вклад в продукцию АФК могут вносить и другие ферментные системы: миелопероксидаза, присутствующая в нейтрофилах и эозинофилах, ксантиноксидаза, электрон-транспортирующие цепи митохондрий и микросом, ферменты, участвующие в метаболизме арахидоновой кислоты.

Не менее важная роль в поддержании легочного гомеостаза принадлежит оксиду азота NO. Он участвует в регуляции тонуса сосудов легких и препятствует развитию легочной гипертензии, что является одним из патогенетических факторов в повреждении легких. Синтез монооксида азота в легких осуществляют три формы NO-синтаз – две конститутивные (eNOS, nNOS) и индуцибельная (iNOS), которые вносят свой вклад в продукцию монооксида азота как в физиологических условиях, так и при стимуляции различными факторами [12, 13].

Длительность воздействия высоких концентраций кислорода на легкие в проводившихся ранее исследованиях обычно не превышала 3-х суток. Изучения динамики продукции АФК и оксида азота в легких в условиях продолжительного воздействия высоких доз кислорода не проводилось.

Целью настоящего исследования было изучить динамику продукции активных форм кислорода клетками легких новорожденных морских свинок, подвергавшихся длительному воздействию гипероксии.

### **Материалы и методы.**

Эксперимент проводили на новорожденных морских свинках с соблюдением этических норм и правил проведения работ с лабораторными животными. В течение суток после рождения животных опытной группы помещали в плексигласовую камеру, в которой в течение всего времени инкубации поддерживали концентрацию кислорода не менее 70% (температура 20–25°C, относительная влажность 50–80%). Концентрацию кислорода в камере контролировали с

помощью анализатора кислорода ПГК-06-100Р (ЗАО «Инсовт», РФ). Длительность инкубации в условиях гипероксии составляла 1, 3, 7 и 14 суток. Контрольные животные в течение такого же периода времени дышали обычным воздухом. В каждой экспериментальной группе находилось 4-5 животных.

Приводимые данные – результат двух независимых экспериментов для каждого из изучаемых сроков воздействия. По окончании инкубации животных обеих групп наркотизировали (тиопентал натрия 15 мг/кг интраперитонеально) и проводили промывание легких через эндотрахеальный зонд трижды по 8 мл раствором 0,9% NaCl. Полученную бронхоальвеолярную лаважную жидкость (БАЛЖ) центрифугировали (900 об/мин, 4°C) для осаждения клеток. Осадок использовали для подсчета общего количества клеток и определения клеточного состава БАЛЖ.

Подсчет общего количества клеток в БАЛЖ проводили в камере Горяева.

Состав клеток БАЛЖ определяли после приготовления мазков и окраски по Романовскому-Гимзе. Подсчитывали не менее 100 клеток с использованием иммерсионного объектива (увеличение 7×90). Выявлялись альвеолярные макрофаги, лимфоциты, полиморфноядерные нейтрофилы. Результат выражали в %.

Способность клеток БАЛЖ к генерации АФК изучалась методом люминол-зависимой хемилюминесценции (ЛЗХЛ) [14]. Люминол легко окисляется в присутствии АФК (супероксидного анион-радикала, синглетного кислорода, перекиси водорода и гидроксильного радикала), переходит в возбужденное состояние и разлагается, испуская квант света. Интенсивность свечения при этом значительно увеличивается. Осадок клеток БАЛЖ ресуспендировали в среде Эрла; 1 мл суспензии ( $2,0 \times 10^6$ /мл) с добавлением 50 мкл 0,1М CaCl<sub>2</sub> и 50 мкл 0,5мМ люминола, вносили в кварцевую кювету для регистрации хемилюминесценции. В качестве стимуляторов клеточной активности применяли липополисахарид (5 мкг\мл) – рецептор-опосредованный стимулятор, и латекс (50 мкл суспензии 1\50) – сильный стимулятор фагоцитоза, не требующий специфического связывания с клеточными рецепторами. Запись и анализ кинетических кривых генерации АФК проводили с помощью компьютерной программы NAS UniChrom.

Для определения содержания нитрит-ионов (одного из конечных стабильных метаболитов NO) в БАЛЖ использовали стандартную методику с реактивом Грисса [15]. Определение проводили после депротеинизации БАЛЖ добавлением сульфата цинка в конечной концентрации 15 г/л [16]. Количество нитритов выражали в мкмоль/л. Для оценки интенсивности продукции NO клетки, выделенные из БАЛЖ животных опытных и контрольных групп, культивировали в концентрации  $1,0 \times 10^6$ /мл в среде DMEM, содержащей 1% эмбриональной сыворотки теленка в течение 1 часа (37°C, 5% CO<sub>2</sub>, увлажненная атмосфера) без добавления стимуляторов. Концентрацию нитритов определяли в среде культивирования клеток, как указано выше.

Общий белок определяли по методу Lowry [17].

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ Statistica 6,0. Для сравнительного анализа данных опытных и контрольных групп на первом этапе определяли нормальность распределения цифровых показателей с использованием критерия Колмогорова-Смирнова. Дальнейший статистический анализ проводили с использованием непараметрического U-теста Манна-Уитни для независимых выборок. Различия считали достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ . Данные представлены в виде медианы и интерквартильных размахов, охватывающих 50% наблюдений.

### **Результаты и их обсуждение.**

Поскольку практически все клеточные элементы, обнаруживаемые в лаважной жидкости, способны к генерации АФК, при измерении интенсивности ЛЗХЛ использовалась суммарная суспензия клеток БАЛЖ. Как показывают результаты анализа клеточного состава БАЛЖ, у новорожденных морских свинок при гипероксии преобладают фагоцитирующие клетки – альвеолярные макрофаги и нейтрофилы (табл. 1). Причем, относительное содержание нейтрофилов после воздействия гипероксии выросло до 16% в опытной группе «14 суток» по сравнению с контролем (1%). Разница статистически достоверна.

На рис.1 представлены типичные кинетические кривые, полученные при изучении продукции АФК клетками БАЛЖ методом ЛЗХЛ. Первая фаза кривой соответствует продукции АФК клетками при адгезии к стеклянной поверхности кюветы. Вторая и третья фазы регистрировались после добавления стимуляторов (липополисахарида и латекса). Внесение стимуляторов указано стрелками. Прерывистая кривая – пример кинетической зависимости, полученной при изучении клеток, выделенных от животных, находившихся в условиях гипероксии. Нами оценивались: форма кинетических зависимостей, интегральная интенсивность хемилюминесценции (рассчитывалась как площадь под кривой за установленный период времени), интенсивность ответа на стимуляторы.

Обращала на себя внимание более быстрая реакция клеток опытных животных на адгезию (рис.1). У контрольных клеток регистрировалась латентная фаза продолжительностью 4-6 мин, которая необходима для сборки комплекса НАДФН-оксидазы на мембране неактивированных фагоцитов. Отсутствие такой фазы у клеток опытных животных наводит на мысль о наличии на их мембранах НАДФН-оксидазы уже в активном состоянии.

При количественной оценке полученных кривых установлено, что относительно кратковременное воздействие высоких доз кислорода (в течение 1 суток) не оказывало выраженного влияния на суммарную продукцию АФК (рис.2). Клетки животных, находившихся в течение 3 суток в условиях гипероксии, имели увеличенную (в среднем, на 167%) интегральную интенсивность хемилюминесценции ( $p < 0,05$ ). Удлинение воздействия гипероксии до 7 и 14 суток сопровождалось достоверным уменьшением интенсивности продукции АФК клетками БАЛЖ по

сравнению с группой «3 суток», которая, однако, оставалась выше контрольных значений на 132% на 7-е сутки ( $p < 0,05$ ) и на 51% на 14-е сутки ( $p < 0,05$ ).

У стимулированных ЛПС и латексом клеток изменение интенсивности хемилюминесценции также зависело от длительности гипероксии (рис. 3). При гипероксии более 3 суток интенсивность хемилюминесценции была статистически достоверно ниже, чем в группах «1 сутки» и «3 суток», а в группе «14 суток» оказалась даже меньше, чем в контроле, на 36,2% и 17,4% при действии ЛПС и латекса, соответственно (различия статистически достоверны). Полученные результаты свидетельствуют о постепенном истощении кислород-активирующей способности клеток, что может способствовать развитию инфекционных осложнений при длительном использовании высокой концентрации кислорода для ИВЛ.

Количество нитрит-ионов (стабильных конечных метаболитов NO) в БАЛЖ опытных животных в группе «3 суток» достоверно превышало контрольные значения, в среднем, в 2,1 раза ( $p < 0,05$ , табл. 2). У животных других опытных групп отмечалась выраженная тенденция к снижению концентрации нитритов в БАЛЖ, которая, однако, была статистически значима лишь на 14-е сутки воздействия гипероксии. Аналогичные результаты были получены относительно изменения уровня нитритов в среде культивирования клеток БАЛЖ.

Первоначальное повышение уровня катаболитов оксида азота в бронхоальвеолярном пространстве новорожденных морских свинок и последующее снижение свидетельствует об изменении его метаболизма в условиях гипероксии. Если динамические изменения очевидны, то о причинах обнаруженного явления на данном этапе работы можно лишь догадываться. Они могут затрагивать как образование NO, так и его катаболические превращения. Например, известно, что повышение концентрации кислорода вызывает активацию NO синтаз [18]. Однако, в условиях гиперпродукции супероксидного анион-радикала, напротив, наблюдается снижение их активности [19]. Образующаяся в клетках окись азота может вступать в реакцию с супероксидным анион-радикалом (с образованием высокоактивного оксиданта пероксинитрита) или в реакцию с тиол-содержащими соединениями с образованием нитрозотиолов, тем самым уменьшая их количество [13]. Косвенным подтверждением является обнаруженное нами ранее выраженное снижение уровня небелковых SH-соединений в БАЛЖ новорожденных животных при гипероксии [20]. Однако в любом случае наблюдаемые колебания, как представляется, неблагоприятны для легких. Помимо участия в свободно-радикальных процессах, NO является важнейшей сигнальной молекулой. Он опосредует регуляцию сосудистого тонуса в легких, подавляет агрегацию тромбоцитов, уменьшает экспрессию адгезивных молекул, участвует в иммунных реакциях [19, 21].

Полученные данные дополняют описанные нами ранее изменения системы антиоксидантов в легких новорожденных морских свинок, подвергнутых экспериментальной гипероксии [20]. В совокупности с представленными в настоящей работе данными, результаты свидетель-

ствуют о том, что относительно короткие сроки воздействия гипероксии (3 суток) характеризуются усилением продукции активных форм кислорода и монооксида азота в легких, в то время как активность антиоксидантных ферментов остается практически неизменной. В таких условиях вполне ожидаемо стимулируются окислительные процессы, что подтверждается снижением уровня небелковых SH-соединений и увеличением количества карбонильных производных в белках бронхоальвеолярной жидкости. При более длительной гипероксии (на 14-е сутки воздействия) дисбаланс в системе оксиданты-антиоксиданты становится еще более выраженным за счет снижения уровня неферментативных антиоксидантов (SH-соединений, альфа-токоферола) и значительного угнетения ферментативного звена антиоксидантной защиты в клетках легких; при этом продукция активных форм кислорода остается усиленной по сравнению с контролем.

Состояние «респираторного взрыва», по мнению большинства исследователей, может рассматриваться как естественная реакция фагоцитов на стимуляцию и необходимый компонент антимикробной защиты [11, 22]. При этом степень повреждения тканей образующимися оксидантами зависит не только от интенсивности и длительности их образования, но и от состояния антиоксидантных систем. В этом плане обнаруженное нами снижение активности антиоксидантов в легких вследствие длительной гипероксии является неблагоприятным фактором, который может служить определяющим в повреждении легких в условиях оксидативного стресса, вызванного гипероксией. Заслуживает внимания также значительное снижение интенсивности генерации АФК клетками БАЛЖ по мере увеличения длительности гипероксии, особенно выраженное при стимуляции клеточной активности. Описанное в ряде работ подавление кислород-активирующей способности фагоцитирующих клеток при разных видах патологии связывают с высоким риском инфекционных осложнений и нарушением иммунной реактивности [23-25].

Таким образом, совокупность представленных результатов позволяет сделать следующие выводы:

- В условиях гипероксии (3-14 суток) в составе БАЛЖ новорожденных морских свинок неуклонно нарастает относительное количество нейтрофилов и снижается доля альвеолярных макрофагов.
- У новорожденных морских свинок количество метаболитов монооксида азота в бронхоальвеолярной лаважной жидкости на 3 суток гипероксии повышается, а затем, на 14 сутки, падает до 37% от контроля. Изменения уровня нитрит-ионов в среде культивирования клеток БАЛЖ носят аналогичный характер, что подтверждает клеточное происхождение метаболитов NO в бронхоальвеолярной жидкости.
- Генерация АФК клетками БАЛЖ в условиях гипероксии усиливается и через 3 суток воздействия превышает контроль на 167%. При более продолжительном воздействии гипероксии

рокси интенсивность продукции АФК снижается, особенно на 14-е сутки в условиях стимулированной функциональной способности клеток.

Выявленные изменения могут способствовать повреждению легких и развитию инфекционных осложнений у новорожденных при длительном использовании ИВЛ с высокой концентрацией кислорода во вдыхаемой смеси.

Выражаем глубокую благодарность сотрудникам кафедры биофизики БГУ за оказанную помощь в проведении исследования люминол-зависимой хемилюминесценции клеток.

### Литература

1. Post M., Copland I. // *Acta Pharmacol. Sin.* 2002. 23 suppl. P. 4-7.
2. Шишко Г.А., Устинович Ю.А. Современные подходы к ранней диагностике и лечению бронхолегочной дисплазии: учебно-методическое пособие для врачей. Мн., 2006.
3. Tölle A., Kolleck I., Schlame M. et al. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1997. Vol. 1346, N 2. P. 198-204.
4. Comhair S.A.A., Erzurum S.C. // *Am. J. Physiol. (Lung Cell. Mol. Physiol.)*. 2001. Vol. 283. P. L246-L255.
5. Piotrowski W.J., Marczak J. // *Int. J. Occup. Med. Environ. Health.* 2000. Vol.13. P.369-385.
6. Tkaczyk J., Vizek M. // *Prague Medical Report.* 2007. Vol.108., №2. P.105-114.
7. Котович И.Л. Особенности метаболической активности макрофагов и компоненты сурфактанта легких у больных саркоидозом: автореф. дисс.... канд. мед. наук: 03.00.04. Минск. 2001.
8. Beck-Schimmer B., Schwendener R., Pasch T. et al. // *Respiratory Research.* 2005. Vol. 6. P.61-74.
9. Gosset P., Wallaert B., Tonnel A.B., Fourneau C. // *Eur. Resp. J.* 1999. Vol. 14, № 1. P. 98-105.
10. Клюбин И.В., Гамалей И.А. // *Цитология.* 1997. Т.39, № 4/5. С. 320-340.
11. Луговская С.А. // *Клинич. лаб. диагн.* 1997. № 9. С. 10-16.
12. Connelly L. // *J. Biol. Chem.* 2003. Vol.278. P.26480-26487.
13. Вознесенский Н.А., Чучалин А.Г., Антонов Н.С. // *Пульмонология.* 1998. т.8, №2. С. 6-10.
14. Van Dyke K., Van Dyke C., Peden D. et al. // *Microchemical J.* 1980. Vol. 25. P. 514-523.
15. Tracey W.R. // *Neuroprotocols.* – 1992. – Vol.1, №2. – P. 125-131.
16. Moshage H., Kok B., Hulzenga J., Jansen P. // *Clin.Chem.* 1995. Vol.46, №6. – P.892-896.

17. Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L. et al. // J.Biol.Chem. 1951. Vol.2. P.265-275.
18. Dweik R.A., Laskowski D., Abu-Soud H.M. et al. // J. Clin. Invest. 1998. Vol. 101, №3. P.660-666.
19. Le Cras T.D., McMurtry I.F. // Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol. 2001. Vol.280. P. L575-L582.
20. Котович И.Л., Рутковская Ж.А., Таганович А.Д. // Весці НАНБ, сер. мед. навук. 2011. №4. С.16-23.
21. Janssen Y.M.W., Soultanakis R., Steece K. et al. // Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol. 1998. Vol.275. P. L1100-L1109.
22. Robinson J.M. // Histochem. Cell. Biol. – 2008. – Vol. 130. – P. 281-297.
23. Parlesak A., Schafer C., Paulus S.B. et al. // Alcoholism: Clin. Exper. Research. – 2003. – Vol.27, №3. – P.503-508.
24. Steevels T., Meyaard L. // Eur. J. Immunol. – 2011. – Vol.41. – P.575-587.
25. Martins P.S., Kallas E.G., Neto M.C. et al. // Shock. – 2003. – Vol.20, № 3. – P. 208-212.

**Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»**

Адрес для корреспонденции:

220116, г. Минск, пр-т Дзержинского, 83

УО «Белорусский государственный медицинский университет»,

кафедра биологической химии

Тел. раб. (017) 272 67 88

Тел. моб. (029) 962 63 13 (Ирина Леонидовна)

Котович И. Л., Рутковская Ж. А., Таганович А. Д. **Продукция активных форм кислорода клетками бронхоальвеолярной жидкости в условиях экспериментальной гипероксии** // Весці НАН Беларусі. Сер.мед.навук. 2012. № . С.

Целью настоящего исследования было изучить динамику продукции активных форм кислорода клетками легких новорожденных морских свинок, подвергавшихся длительному воздействию гипероксии. Клетки выделяли из бронхоальвеолярной лаважной жидкости (БАЛЖ). Выявлено увеличение относительного содержания нейтрофилов и усиление генерации активных форм кислорода клетками БАЛЖ при гипероксии. При воздействии гипероксии свыше 3 суток интенсивность продукции активных форм кислорода, в том числе в условиях стимуляции функциональной активности клеток, снижается. Количество нитрит-ионов в БАЛЖ и среде культивирования клеток увеличивается на 3 сутки, а затем падает до 37% от контроля на 14 сутки гипероксии. Выявленные изменения могут способствовать повреждению легких у новорожденных при длительном использовании ИВЛ с высокой концентрацией кислорода.

Табл. 2. Ил. 3. Библиогр. – 25 назв.

*И. Л. КОТОВИЧ, Ж. А. РУТКОВСКАЯ, А. Д. ТАГАНОВИЧ*

**ПРОДУКЦИЯ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА КЛЕТКАМИ БРОНХОАЛЬВЕОЛЯРНОЙ ЖИДКОСТИ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРОКСИИ**

*Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», Минск,  
Беларусь*

**Резюме**

Целью настоящего исследования было изучить динамику продукции активных форм кислорода клетками легких новорожденных морских свинок, подвергавшихся длительному воздействию гипероксии. Клетки выделяли из бронхоальвеолярной лаважной жидкости (БАЛЖ). Выявлено увеличение относительного содержания нейтрофилов и усиление генерации активных форм кислорода клетками БАЛЖ при гипероксии. При воздействии гипероксии свыше 3 суток интенсивность продукции активных форм кислорода, в том числе в условиях стимуляции функциональной активности клеток, снижается. Количество нитрит-ионов в БАЛЖ и среде культивирования клеток увеличивается на 3 сутки, а затем падает до 37% от контроля на 14 сутки гипероксии. Выявленные изменения могут способствовать повреждению легких у новорожденных при длительном использовании ИВЛ с высокой концентрацией кислорода.

*I. L. KOTOVICH, ZH. A. RUTKOVSKAYA, A. D. TAGANOVICH*

**PRODUCTION OF REACTIVE OXYGEN SPECIES BY THE BRONCHOALVEOLAR  
CELLS UNDER EXPERIMENTAL HYPEROXIA**

*Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus*

**Summary**

The aim of the present research was to study the dynamics of reactive oxygen species production by the lung cells of newborn guinea pigs exposed to prolonged hyperoxia. The cells were isolated from the bronchoalveolar lavage fluid (BALF). Under hyperoxia the increase in neutrophil content and enhanced generation of reactive oxygen species by BALF cells have been found. Following exposure to hyperoxia over 3 days the rate of stimulated reactive oxygen species production by cells decreased. Nitrite level in BALF and cell culture medium elevated after 3 days exposure to hyperoxia, but later decreased to 37% of controls after 14 days exposure. The revealed changes may contribute to the lung injury in newborns exposed to prolonged ventilation with high oxygen supplementation.

Таблица 1. Содержание общего белка и клеточный состав БАЛЖ новорожденных морских свинок в условиях гипероксии

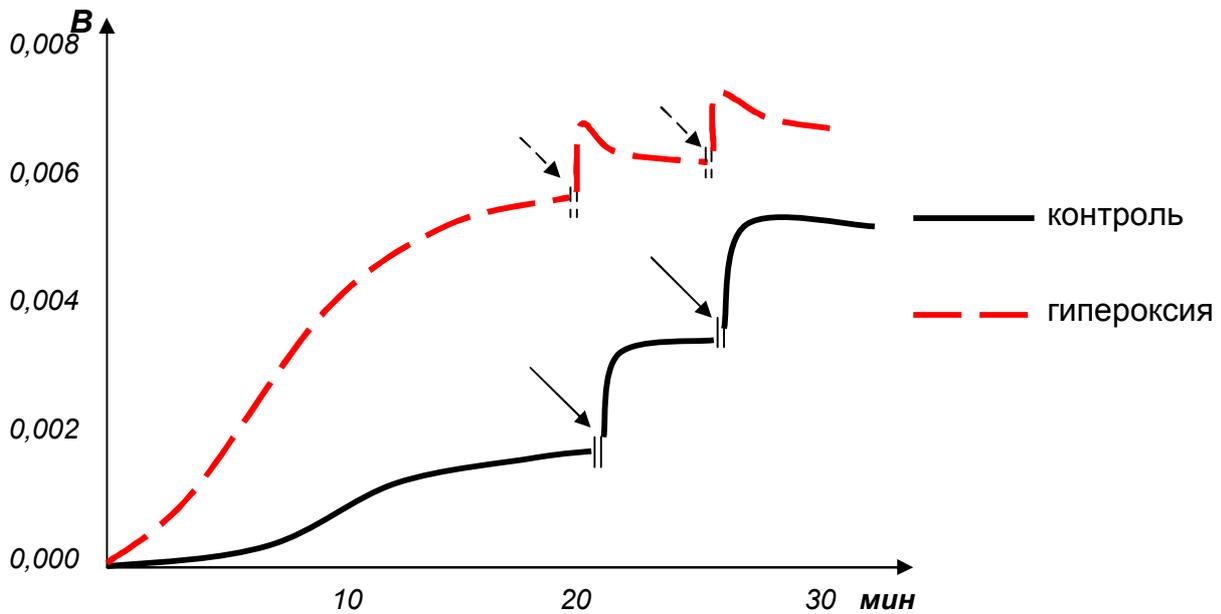
Группа		Общий белок, мкг·мл <sup>-1</sup>	Общее количество клеток, 10 <sup>5</sup> ·мл <sup>-1</sup>	АМ, %	Нейтрофилы, %	Лимфоциты, %
1 сутки	Контроль	391,6 (262,9; 458,3)	7,3 (6,7; 7,7)	95,0 (95,0; 96,0)	2,0 (1,0; 2,0)	3,0 (2,0; 3,0)
	Опыт	491,6 (250,4; 762,5)	5,4 (4,8; 5,6)*	94,0 (94,0; 95,0)	3,0 (3,0; 4,0)*	2,0 (2,0; 3,0)
3 суток	Контроль	226,6 (198,3; 280,0)	3,6 (2,7; 6,5)	96,0 (95,0; 98,0)	1,0 (1,0; 2,0)	2,0 (1,0; 4,0)
	Опыт	458,3 (416,6; 512,5)*	6,8 (6,7; 10,1)*	88,5 (86,0; 89,5)* <sup>1</sup>	8,5 (6,5; 11,0)* <sup>1</sup>	4,0 (3,0; 5,0)
7 суток	Контроль	297,9 (250; 383,3)	6,3 (6,1; 6,8)	98,0 (99,0; 99,0)	0,0 (0,0; 1,0)	1,5 (1,0; 3,0)
	Опыт	297,9 (216,6; 320,8)	4,3 (3,6; 4,8)*	85,5 (82,0; 87,0)* <sup>1</sup>	11,0 (10,0; 14,0)* <sup>1</sup>	3,5 (3,0; 4,0)
14 суток	Контроль	180,8 (177,9; 191,7)	5,1 (2,9; 5,9)	95,0 (95,0; 98,0)	1,0 (0,0; 2,0)	3,0 (2,0; 4,0)
	Опыт	305,0 (283,3; 314,5)*	4,5 (3,8; 6,5)	80,0 (70,0; 85,0)* <sup>12</sup>	16,0 (12,0; 25,0)* <sup>12</sup>	4,0 (3,0; 5,0)

Примечания – БАЛЖ – бронхоальвеолярная лаважная жидкость; АМ – альвеолярные макрофаги. Достоверность различий (p<0,05): \* - по сравнению с контролем; <sup>1</sup> – по сравнению с группой «1 сутки», <sup>2</sup> – по сравнению с группой «3 суток».

Таблица 2 – Содержание нитрит-ионов в бронхоальвеолярной лаважной жидкости и супернатанте культуры клеток БАЛЖ новорожденных морских свинок в условиях гипероксии

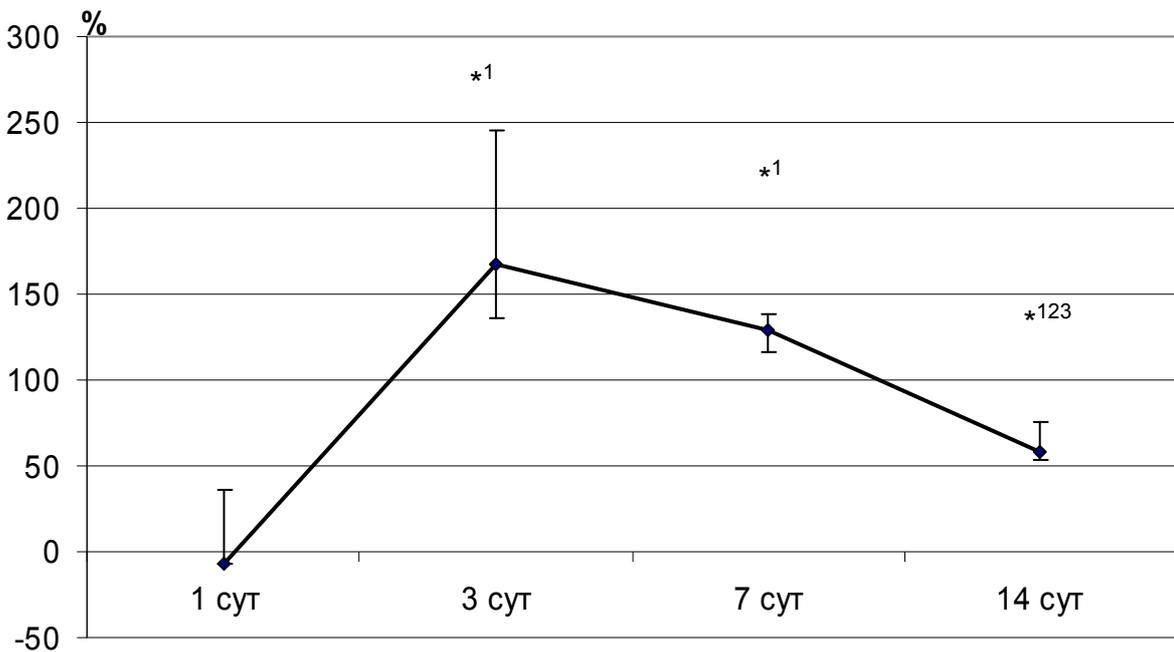
Группа		NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> в БАЛЖ, мкмоль	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> в супернатанте культуры клеток, мкмоль
1 сутки	контроль	0,82 (0,60; 1,21)	2,22 (1,67-2,88)
	опыт	0,55 (0,50; 0,71)	1,05 (0,61-1,53)*
3 суток	контроль	0,16 (0,10; 0,16)	1,93 (1,54-1,93)
	опыт	0,35 (0,30; 0,49)*	3,12 (2,11-3,23)*
7 суток	контроль	0,41 (0,22; 0,49)	2,62 (1,09-3,03)
	опыт	0,16 (0,10; 0,32)	2,01 (1,81-2,75)
14 суток	контроль	0,30 (0,19; 0,35)	3,08 (1,65-3,18)
	опыт	0,11 (0,0; 0,11)*	1,86 (1,86-2,19)*

Примечание - \* - p<0,05 по сравнению с контролем



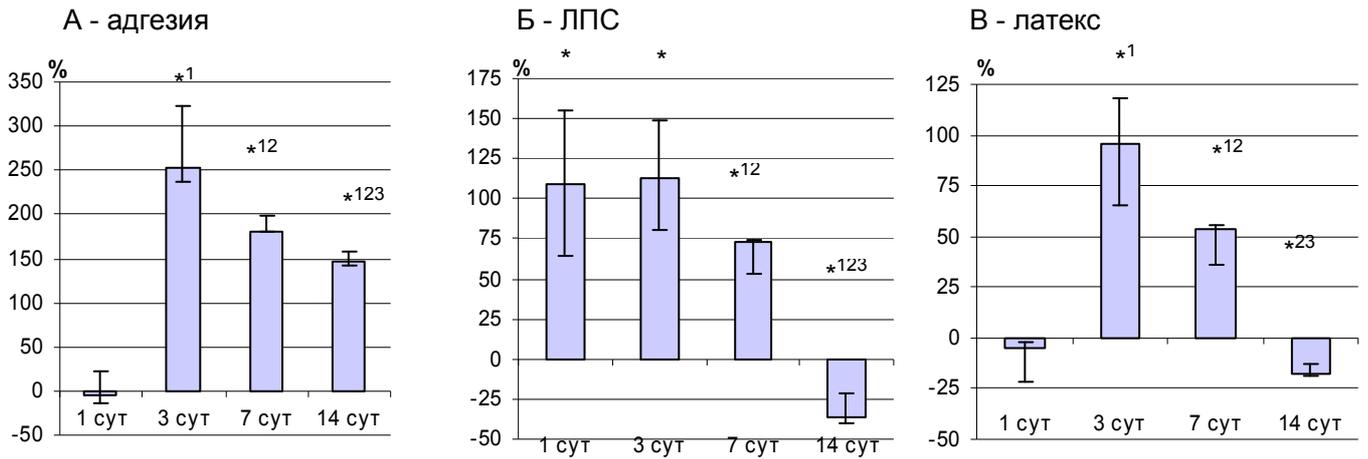
Примечания – стрелками указано внесение стимуляторов;  
 Фаза I - адгезия к стеклу  
 Фаза II - + ЛПС  
 Фаза III - + латекс

**Рисунок 1** – Типичные кинетические кривые люминол-зависимой хемилюминесценции, полученные при изучении клеток БАЛЖ новорожденных морских свинок



Примечания – нулевой уровень соответствует контрольным значениям. Достоверность различий ( $p < 0,05$ ): \* - по сравнению с контролем, 1 – по сравнению с группой «1 сут»; 2 – по сравнению с группой «3 сут»; 3 – по сравнению с группой «7 сут».

**Рисунок 2** – Динамика изменения интегральной интенсивности ЛЗХЛ клеток БАЛЖ под влиянием гипероксии



Примечания – нулевой уровень соответствует контрольным значениям.

Достоверность различий ( $p < 0,05$ ): \* - по сравнению с контролем, 1 – по сравнению с группой «1 сут»; 2 – по сравнению с группой «3 сут»; 3 – по сравнению с группой «7 сут».

**Рисунок 3** – Интенсивность ЛЗХЛ клеток в ответ на адгезию к стеклу (А), стимуляцию липополисахаридом (Б) и латексом (В)