

**РОЛЬ ГЕНЕТИЧЕСКИ ОБУСЛОВЛЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ  
ОРГАНИЗМА ТЕПЛОКРОВНЫХ К ГИПОКСИИ В РЕАЛИЗАЦИИ  
ЭФФЕКТОРНЫХ ФУНКЦИЙ НЕЙТРОФИЛОВ В МОДЕЛИ  
АДЬЮВАНТ-ИНДУЦИРОВАННОГО РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА**

Пухаева Е. Г. <sup>1</sup>,  
Бадтиев А. К. <sup>1</sup>,  
Саламова Ф.Э. <sup>1</sup>,  
Дзгоев С. Г. <sup>1</sup>,  
Купеева А. М. <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт биомедицинских исследований, филиал Владикавказского  
научного центра РАН.

**THE ROLE OF GENETICALLY DETERMINED BODY RESISTANCE OF  
WARM-BLOODED ANIMALS TO HYPOXIA IN THE REALIZATION OF  
EFFECTOR FUNCTIONS OF NEUTROPHILS IN THE MODEL OF  
ADJUVANT-INDUCED RHEUMATOID ARTHRITIS**

Pukhaeva E. G. <sup>a</sup>,

Badtiev A. K. <sup>a</sup>,

Salamova F. E. <sup>a</sup>,

Dzgoev S. G. <sup>a</sup>,

Kupeeva A. M. <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Institute of Biomedical Research, branch of the Vladikavkaz Scientific Center of the Russian Academy of Sciences.

## Резюме

**Введение:** Гипоксия может выступать одновременно причиной и следствием патогенетических механизмов инфекционных, аутовоспалительных и аутоиммунных процессов. Учитывая, что популяции человека и животных генетически гетерогенны по резистентности организма к недостатку кислорода, современный подход к прогнозированию и терапии заболеваний, связанных с нарушением иммунной регуляции организма, требует учета роли гипоксии в реализации патогенетических механизмов воспаления. **Цель исследования:** дать оценку особенностям реализации эффекторных функций нейтрофилов в норме и на фоне индуцированного воспалительного процесса у животных с генетически predetermined высокой и низкой устойчивостью к гипоксии. **Материалом** для исследования послужили 8 месячные самцы крыс с генетически обусловленной толерантностью к гипоксии (высокоустойчивая линия ВУ/SmY; низкоустойчивая линия НУ/SmY), весом 400-450г. Крысам опытных групп линий ВУ/SmY, НУ/SmY индуцировали развитие иммунных реакций в модели ревматоидного артрита (РА). Через 35 дней отобранную у животных кровь инкубировали с суспензией туши (1:10). Зафиксированные в парах формалина мазки окрашивали 0,5% раствором метиленового синего, анализировали при 400-кратном увеличении микроскопа. Рассчитывали фагоцитарный индекс (ФИ), фагоцитарное число (ФЧ), количество суицидального нетоза с частичной и полной деконденсацией хроматина. Достоверность различий в группах оценивали по критерию Манна-Уитни и t-критерию Стьюдента. **Результаты.** В контрольных группах животных НУ/SmY и ВУ/SmY ФИ и ФЧ нейтрофилов достоверно не различались (52,5%/49%; 1,68/1,80 соответственно). В опытных группах ФИ нейтрофилов линии НУ/SmY (66 %,  $p \leq 0,05$ ) превышал таковой группы линии ВУ/SmY (56%). При системном воспалении ФИ нейтрофилов в группе низкоустойчивых крыс увеличивался в 1,26 ( $p \leq 0,05$ ) раза, а количество нейтрофилов, захватывающих по 2-8 частиц - в 1,3 ( $p \leq 0,01$ ) раза на фоне здоровых. В опытной группе ВУ/SmY, где

зафиксирован 1,81% более эффективных нейтрофилов, способных поглощать от 9 до 12 частиц ( $p \leq 0,01$ ), ФИ был в 1,2 раза ниже такового у линии НУ/SmY. В процесс суицидального нетоза у здоровых крыс ВУ/SmY вовлечено в 1,4 ( $p \leq 0,05$ ) раза нейтрофилов больше, чем у аналогичной группы линии НУ/SmY. Системное воспаление в группе НУ/SmY вызывало двукратный рост NETs (19,67%), что в 1,7 раза превышало показатели опытной группы ВУ/SmY.

**Заключение:** У организмов с генетически обусловленной низкой устойчивостью к гипоксии на фоне воспалительного процесса существует большее напряжение на клеточно-опосредованное звено иммунитета в процессе ликвидации флогогена по сравнению с высокоустойчивыми, что может являться причиной развития у них более тяжелых патогенетических форм воспалительных и аутоиммунных заболеваний.

**Ключевые слова:** системное воспаление, эффекторные функции нейтрофилов, фагоцитоз, нетоз, генетически обусловленная устойчивость к гипоксии, ревматоидный артрит.

## Abstract

**Introduction:** Hypoxia can be both a cause and a consequence of the pathogenetic mechanisms of infectious, autoinflammatory, and autoimmune processes. Given that human and animal populations are genetically heterogeneous in terms of the body's resistance to oxygen deficiency, the modern approach to predicting and treating diseases associated with impaired immune regulation requires taking into account the role of hypoxia in the implementation of pathogenetic mechanisms of inflammation. **The purpose of the study:** to evaluate the peculiarities of the realization of the effector functions of neutrophils in normal conditions and against the background of an induced inflammatory process in animals with genetically predetermined high and low resistance to hypoxia. **The material** for the study was 8-month-old male rats with genetically determined tolerance to hypoxia (highly resistant HR/SmY line; low-resistant LR/SmY line), weighing 400-450 g. Rats from the experimental groups of the HR/SmY and LR/SmY lines were induced to develop immune responses in a model of rheumatoid arthritis (RA). After 35 days, the blood taken from the animals was incubated with a carcass suspension (1:10). The smears recorded in formalin vapors were stained with 0.5% methylene blue solution and analyzed at 400x magnification of a microscope. The phagocytic index (PHI), phagocytic number (PN), and the number of suicidal netosis with partial and complete chromatin decondensation were calculated. The significance of differences in the groups was assessed by the Mann-Whitney test and the Student's t-test. **Results:** In the control groups of LR/SmY and HR/SmY animals, PHI and PN of neutrophils did not significantly differ. (52,5%/49%; 1,68/1,80 respectively). In the experimental groups, the PHI of neutrophils of the LR/SmY line (66%,  $p<0.05$ ) exceeded that of the HR/SmY line (56%). With systemic inflammation, the PHI of neutrophils in the group of low-tolerance rats increased by 1.26 ( $p<0.05$ ) times, and the number of neutrophils capturing 2-8 particles increased by 1.3 ( $p<0.01$ ) times in healthy rats. In the experimental HR/SmY group, where 1.81% of more effective neutrophils capable of absorbing from 9 to 12 particles ( $p<0.01$ ) were recorded, the PHI was 1.2 times

lower than that of the LR/SmY line. In healthy HR/SmY rats, 1.4 ( $p < 0.05$ ) times more neutrophils are involved in the process of suicidal netosis than in the similar group of the LR/SmY line. Systemic inflammation in the LR/SmY group caused a twofold increase in NETs (19.67%), which was 1.7 times higher than in the experimental HR/SmY group. **Conclusion:** Organisms with genetically determined low resistance to hypoxia against the background of the inflammatory process have a greater stress on the cell-mediated link of immunity in the process of phlogogen elimination compared to highly resistant ones, which may cause them to develop more severe pathogenetic forms of inflammatory and autoimmune diseases.

**Keywords:** systemic inflammation, effector functions of neutrophils, phagocytosis, netosis, genetically determined resistance to hypoxia, rheumatoid arthritis.

## 1 Введение

2 На современном этапе проблема диагностики и лечения различных  
3 инфекционных, аутовоспалительных и аутоиммунных заболеваний имеет  
4 высокую социально-экономическую значимость, как в Российской  
5 Федерации, так и во всем мире, поскольку только ежегодная летальность от  
6 инфекционных заболеваний составляет 33% от общего количества  
7 зарегистрированных смертей [9]. Новые аспекты патогенетических  
8 механизмов системной воспалительной реакции, на которые следует обратить  
9 внимание, могут лежать в области изучения роли недостаточной оксигенации  
10 тканей в реализации клинических признаков заболеваний.

11 Гипоксия, являясь патологическим процессом, обуславливающим  
12 нарушение энергообеспечения органов и тканей, пластических процессов в  
13 них на фоне недостаточности биологического окисления, может выступать  
14 одновременно причиной и следствием воспалительного процесса [6, 20].  
15 Условия микросреды в очагах воспаления, формирующиеся в результате  
16 нарушения оттока продуктов нормального и нарушенного обмена веществ,  
17 щелочных буферных систем, характеризуются низким содержанием  
18 кислорода и глюкозы, высоким содержанием лактата и недоокисленных  
19 соединений, обуславливающих развитие метаболического ацидоза.  
20 Регуляцию кислородного гомеостаза на клеточном, тканевом и  
21 организменном уровне осуществляет индуцируемый гипоксией ключевой  
22 транскрипционный фактор HIF-1 $\alpha$ , формирующий адаптационные механизмы  
23 клеток и тканей к недостаточной оксигенации через трансактивацию  
24 широкого спектра генов. Активируемое индуцируемым гипоксией HIF-1 $\alpha$   
25 метаболическое перепрограммирование клеток миелоидного ряда,  
26 предполагает использование доступного для выработки энергии субстрата за  
27 счет гликолиза, что обеспечивает повышение продукции АТФ усиление  
28 эффекторных свойств и способности нейтрофилов к инфильтрации в  
29 поврежденные ткани [12, 21]. Необходимо отметить, что в условиях  
30 воспаления HIF может проявлять как противовоспалительную, так и  
Medical Immunology (Russia)

31 провоспалительную функции [13], поскольку существует взаимосвязь, между  
32 активируемым гипоксией ключевым транскрипционным фактором HIF-1 $\alpha$  и  
33 регулятором воспаления ядерным фактором NF- $\kappa$ B, опосредующим совместно  
34 с TLR-4, дифференциальную экспрессию генов провоспалительных  
35 цитокинов [19]. Генерализация воспаления осуществляется на фоне  
36 метаболической поддержки и модификации энергообеспечения клеточных  
37 звеньев иммунитета, неконтролируемой обратной положительной связи  
38 между процессами активации и избыточной продукции медиаторов  
39 острофазового ответа, включая провоспалительные цитокины - ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6,  
40 ФНО- $\alpha$  [1, 3].

41 Устойчивость к гипоксии в человеческой популяции неоднородна и  
42 генетически обусловлена. Noshachka PW показано наличие различного  
43 профиля энергетических процессов, физиологических, биохимических  
44 показателей в исследованных выборках из коренного населения Анд (кечуа),  
45 Гималаев (шерпы), жителей горных районов Африки, живущих в области  
46 высокогорья по сравнению с группой, сформированной из населения равнин  
47 [18]. В популяции жителей Тибета описано наличие генетической сигнатуры  
48 в гене белка 2, содержащего домен пролилгидроксилазы (PHD2). Такой  
49 гипероморфный гаплотип PHD2 (D4E/C127S) и специфический гаплотип  
50 HIF2- $\alpha$  перенастраивают путь HIF, способствуя манифестации адаптивных  
51 механизмов к условиям высокогорья [22, 16].

52 Гетерогенность толерантности организмов к недостаточной  
53 оксигенации характерна и для животных. Крысы, обладающие разной  
54 степенью устойчивости к гипоксии, отобранные из популяции Wistar,  
55 демонстрируют отличие механизмов и выраженности системной  
56 воспалительной реакции. У низкоустойчивых к гипоксии животных  
57 наблюдается повышенная экспрессия NF- $\kappa$ B и HIF-1 $\alpha$  в печени, IL-1 $\beta$  и С-  
58 реактивного белка. У высокоустойчивых к гипоксии крыс уровень  
59 противовоспалительного цитокина IL-10 в острую фазу воспаления выше, а  
60 количественные показатели цитокина TGF- $\beta$ , контролирующего  
Medical Immunology (Russia)

61 пролиферацию и клеточную дифференцировку ниже, чем у восприимчивых к  
62 гипоксии крыс. В процессе развития системных воспалительных заболеваний  
63 особая роль принадлежит взаимодействию флогогенных факторов с  
64 иммунокомпетентными клетками в условиях усугубляющейся гипоксии.  
65 Являясь универсальными пластичными элементами врожденной иммунной  
66 системы, нейтрофилы в условиях недостатка кислорода активируются через  
67 NIF-1 $\alpha$ . Поскольку нейтрофильные гранулоциты, выполняя эффекторные  
68 функции (фагоцитоз, дегрануляция, нетоз) обеспечивают внутри- и  
69 внеклеточный киллинг, функциональные нарушения в них могут привести к  
70 патогенетическим процессам, связанным с развитием иммунодефицитных  
71 состояний, аутоиммунных заболеваний и развитию хронических  
72 инфекционных процессов. Исследования показали, что фармакологическая  
73 модуляция эффекторных функций нейтрофилов оказывает положительное  
74 влияние на эффективность лечения больных [15].

75 Учитывая сказанное выше, современный подход к прогнозированию и  
76 терапии заболеваний, связанных с нарушением иммунной регуляции  
77 организма, требует учета вариативности генетической обусловленности  
78 организмов по резистентности к недостатку кислорода, сопряженной с  
79 различной экспрессией индуцируемого гипоксией фактора NIF-1 $\alpha$ ,  
80 запускающего механизмы воспалительного ответа. Ввиду недостаточности  
81 подобных исследований, нами поставлена **цель исследования**: дать оценку  
82 особенностям реализации эффекторных функций нейтрофилов в норме и на  
83 фоне индуцированного воспалительного процесса у животных с закрепленной  
84 генетически высокой и низкой устойчивостью к гипоксии. **Задачи**  
85 **исследования**: оценить способность нейтрофильных гранулоцитов к  
86 фагоцитозу и образованию нейтрофильных внеклеточных ловушек у здоровых  
87 животных и на фоне индуцированного аутоиммунного ревматоидного артрита  
88 (РА) у крыс с разной резистентностью к гипоксии.

89

90

*Материалы и методы*

91 Материалом для исследования послужили самцы крыс с генетически  
92 обусловленной толерантностью к гипоксии (линия ВУ/SmY -  
93 высокоустойчивые к гипоксии; линия НУ/SmY - низкоустойчивые к  
94 гипоксии), произведенные в Филиале «Андреевка» ФГБУН НЦБМТ ФМБА  
95 России.

96 *Дизайн эксперимента:*

97 Животных в возрасте 8 месяцев, весом 400-450г разделяли на четыре  
98 экспериментальные группы по 10 крыс в каждой. Крысам 1, 2 контрольных  
99 групп (самцы линий ВУ/SmY и НУ/SmY, соответственно) вводили  
100 растворители (вазелиновое масло (жидкий парафин)) из расчета 0,1 мл на 200  
101 г массы тела (м.т.) в тазовую конечность. Самцам линий ВУ/SmY и НУ/SmY  
102 (опытные группы 3, 4 соответственно) моделировали РА, индуцируя развитие  
103 иммунных реакций подкожной инъекцией в правую заднюю конечность  
104 полного адьюванта Фрейнда ПАФ (Difco Laboratories (Detroit, США) из  
105 расчета 0,1 мл на 200 г м.т. [2]. Через 35 дней от начала формирования модели  
106 из сердца под общим наркозом (Золетил) отбирали кровь, которую  
107 стабилизировали гепарином с конечной концентрацией антикоагулянта 50  
108 МЕ/мл. Для оценки уровней индуцированного фагоцитоза и нетоза  
109 нейтрофилов образцы крови подогревали в термостате до 37° С,  
110 предварительно смешав их в соотношении 10:1 с суспензией туши,  
111 разведенной физраствором хлорида натрия в соотношении 1:1000. Для оценки  
112 индуцированного нетоза пробы инкубировали в термостате в течение 30 минут  
113 при 37° С; для оценки индуцированного фагоцитоза – при 38° С. По окончании  
114 инкубации пробы тщательно перемешивали и, отбирая из каждого образца по  
115 3мкл, изготавливали стандартизированные по толщине мазка микропрепараты  
116 при помощи аппарата для мазков Vision (Австрия). Высушенные при  
117 комнатной температуре препараты фиксировали в парах формалина 25 мин  
118 при 37° С и окрашивали 0,5% раствором метиленового синего в течение 3  
119 минут. Мазки анализировали при 400-кратном увеличении микроскопа Primo  
120 Star (Zeiss). Для оценки фагоцитарной активности сегментоядерных  
Medical Immunology (Russia)

121 гранулоцитов анализировали по 100 клеток на каждую крысу (1000  
122 нейтрофилов на каждую точку эксперимента). Фиксировали количество  
123 фагоцитирующих нейтрофилов (ФН) и количество поглощенных частиц (ПЧ).  
124 Рассчитывали фагоцитарный индекс (ФИ), фагоцитарное число (ФЧ):

$$125 \quad \text{ФИ} = \frac{\text{ФН}}{\text{общее число проанализированных нейтрофилов}} \times 100; \text{ФЧ} = \frac{\text{ПЧ}}{\text{ФН}}.$$

126 [11, 8].

127 В поле зрения микроскопа (увеличение 400X) регистрировали  
128 нейтрофилы с выходом хроматина из цитоплазмы. Исследовали по 150  
129 сегментоядерных гранулоцитов на каждое животное (1500 клеток на точку  
130 эксперимента). Количество суицидального нетоза с частичной и полной  
131 деконденсацией хроматина (ЧДХ, ПДХ) рассчитывали в процентах.

132 Полученные результаты сравнивали: между контрольной и опытной  
133 группами (1:3; 2:4); между контрольными группами 1:2; между опытными  
134 группами 3:4. Достоверность различий оценивали по критерию Манна-Уитни,  
135 обработав данные в программе *Excel*. Статистически значимой считали  
136 разницу между выборками при  $p \leq 0,05$ . Спектр фагоцитарной активности (ФА)  
137 дифференцировали по количеству, нейтрофилов захвативших по 1; 2-4; 5-8; 9-  
138 12 частиц туши. Определяли статистическую значимость различий между  
139 группами ( $p \leq 0,05$ ), используя t-критерий Стьюдента, поскольку все крысы  
140 (опытные и контрольные) являются идентичными генетически и составляют  
141 единую выборку в 1000 клеток, где каждый нейтрофил исследовался как  
142 отдельный объект.

143 В работе с лабораторными животными придерживались правил и  
144 этических норм содержания и ухода, описанных в руководстве National  
145 Research Council, 2011 г. и ГОСТ Р53434-2009 «Принципы надлежащей  
146 лабораторной практики» с разрешения этического комитета при Институте  
147 биомедицинских исследований ВНЦ РАН. Эвтаназию животных  
148 осуществляли в CO<sub>2</sub>-затравочной камере.

149

150

*Результаты*

151 По нашим данным, в контрольных группах животных с генетически  
152 обусловленной различной устойчивостью к гипоксии линий НУ/SmY и  
153 ВУ/SmY количество нейтрофилов, участвующих в фагоцитозе достоверно не  
154 различалось (табл. 1). Развитие системной воспалительной реакции у  
155 животных опытных групп вызывало различный ответ нейтрофилов на  
156 воздействие флогогенных факторов. Количество вступивших в процесс  
157 фагоцитоза клеток в группе линии НУ/SmY значимо ( $p \leq 0,05$ ) превышало  
158 таковое в группе линии ВУ/SmY. Развитие РА, обусловленное введением  
159 адьюванта Фрейнда, усиливало фагоцитарную активность нейтрофилов в  
160 группе низкоустойчивых крыс в 1,26 раза ( $p \leq 0,05$ ) на фоне контрольных  
161 показателей данной линии. В группе высокоустойчивых крыс активность  
162 фагоцитоза нейтрофилов в условиях развития воспалительного процесса хоть  
163 и имела тенденцию к повышению, но достоверно не изменилась. Нами  
164 выявлена различная способность к захвату частиц фагоцитирующими  
165 нейтрофилами в исследуемых группах животных при наличии и отсутствии в  
166 организме системного воспаления. В группе низкорезистентных к гипоксии  
167 крыс воспалительная среда достоверно индуцировала рост ФЧ в 1,2 раза  
168 ( $p \leq 0,05$ ) по сравнению с аналогичным контролем. В опытной группе  
169 высокорезистентных крыс отмечалось незначительное повышение данного  
170 показателя по сравнению с контрольной. В то же время, зафиксирована  
171 тенденция к более высокому фагоцитарному потенциалу нейтрофилов в  
172 контрольной группе высокоустойчивых животных по сравнению с таковой  
173 низкоустойчивых. Важно отметить, что в условиях воспаления в  
174 сравниваемых опытных группах, показатели ФЧ практически идентичны.

175 Динамика нетоза нейтрофилов (рис.1) разнотолерантных  
176 животных в норме и патологии представлена в таблице 2. Способность к  
177 образованию внеклеточных нейтрофильных ловушек NETs у здоровых крыс с  
178 разной толерантностью к гипоксии значимо различалась.

179 В процесс ликвидации флогогена путем суицидального нетоза (с  
180 частичной и полной деконденсацией хроматина) у контрольных крыс линии  
181 ВУ/SmY включилось в 1,4 раза ( $p \leq 0,05$ ) нейтрофилов больше, чем в  
182 аналогичной группе НУ/SmY. Ответ на системное воспаление,  
183 сформированное в модели РА, в группе низкоустойчивых животных  
184 заключался в двукратном росте количества нейтрофилов, вовлеченных в  
185 формирование NETs. Ввиду наличия высокого потенциала к внеклеточному  
186 воздействию нейтрофилов на флогоген у здоровых высокорезистентных к  
187 гипоксии животных, способность к образованию NETs. в условиях системного  
188 воспаления не только не повышалась, но и имела тенденцию к  
189 незначительному понижению в группе животных с модельным РА. Крысы  
190 опытной группы НУ/SmY демонстрировали более высокую напряженность  
191 клеточного звена иммунитета, выражающуюся в выбросе внеклеточных  
192 ловушек нейтрофилами в 1,7 раза ( $p \leq 0,013$ ) превышающую таковую у  
193 опытной группы ВУ/SmY.

194 Спектр фагоцитарной активности (ФА) (рис. 2) позволяет оценить  
195 суммарный фагоцитарный потенциал всех исследованных на точку  
196 эксперимента клеток с учетом градации нейтрофилов по способности  
197 захватывать определенное количество частиц (от 1 до 12) (табл. 3). Различия  
198 между контрольными группами исследуемых линий заключается в наличии  
199 большего числа нейтрофилов, способных поглотить более 1 частицы за  
200 ограниченный экспериментальными условиями временной промежуток: в  
201 группе крыс линии ВУ/SmY ФА наблюдается достоверное ( $p \leq 0,01$ )  
202 превышение показателей группы линии НУ/SmY. Развитие воспаления в  
203 группе крыс НУ/SmY обуславливает увеличение в 1,3 раза количества клеток,  
204 способных захватывать по 2-8 частиц по сравнению со здоровыми животными  
205 ( $p \leq 0,01$ ). В группе высокоустойчивых к гипоксии крыс, наличие системного  
206 воспалительного ответа не изменило количественные показатели  
207 нейтрофилов, способных поглощать 2-8 частиц на фоне контрольных, но  
208 зарегистрировано присутствие более эффективных клеток, способных  
Medical Immunology (Russia)

209 одновременно захватывать от 9 до 12 частиц ( $p \leq 0,01$ ). Различия в  
210 результативности фагоцитоза в опытных группах низко- и высокоустойчивых  
211 к гипоксии крыс не достоверны, но ВУ/SmY имеют менее выраженную  
212 продуктивность по группе клеток, фагоцитирующих от 2 до 8 частиц. Вместе  
213 с тем, в группе высокорезистентных к недостатку кислорода крыс на фоне  
214 индуцированного аутоиммунного РА фагоцитоз приобретает более высокую  
215 результативность за счет наличия высокоэффективных нейтрофилов,  
216 поглощающих по 9-12 частиц ( $p \leq 0,01$ ), что не фиксировалось у  
217 низкорезистентных особей.

218

### 219 *Обсуждение результатов*

220 Результаты исследования показали, что у крыс с генетически  
221 предопределенной толерантностью к гипоксии значимых различий в  
222 фагоцитарной активности нейтрофилов между здоровыми  
223 разнотолерантными животными не выявлено, но зафиксированы значимые  
224 различия в реализации внутриклеточных и внеклеточных эффекторных  
225 механизмов иммунитета между опытными группами животных. Более  
226 высокая напряженность иммунных реакций на флогогенные факторы в  
227 условиях системного воспаления отмечается у низкоустойчивых организмов,  
228 что может быть объяснимо со следующих позиций. По литературным данным  
229 низкорезистентные к гипоксии животные отличаются от высокоустойчивых  
230 более выраженным напряжением симпатoadреналовой, кислород-  
231 транспортной систем, низкой активностью работы антиоксидантных систем,  
232 повышенным содержанием продуктов липопероксидации в тканях, наличием  
233 гиперкалиемии, гиперкальциемии. Высокую устойчивость к гипоксии  
234 обеспечивают компенсаторные механизмы, способствующие к адаптации  
235 организма к недостаточной оксигенации. Утилизация недоокисленных  
236 продуктов и процессы клеточной регенерации у высокоустойчивых особей  
237 обеспечиваются ростом интенсивности анаболической фазы обмена на фоне  
238 активации производства свободнорадикальных форм кислорода и работы  
Medical Immunology (Russia)

239 антиоксидантных систем, в то время как у низкоустойчивых особей  
240 компенсаторные механизмы к повреждающему действию гипоксии  
241 недостаточны [5, 7]. Поскольку системная гипоксия усиливает хемотаксис и  
242 выработку АФК, бактерицидные свойства нейтрофилов, а также способствует  
243 возрастанию фагоцитарной активности и их последующей апоптотической  
244 реакции [24], вышеуказанные метаболические преимущества  
245 высокоустойчивых к гипоксии организмов способны обеспечить их высокую  
246 функциональность в реализации эффекторных функций нейтрофилов в  
247 модели адьювант-индуцированного ревматоидного артрита. Это  
248 подтверждается результатами нашего исследования: эффекторные свойства  
249 нейтрофильных гранулоцитов здоровых высокорезистентных к гипоксии  
250 животных, проявляющиеся в способности к внеклеточному захвату и лизису  
251 частиц (нетоз), превосходят таковые у низкорезистентных крыс. На фоне  
252 воспаления, интенсификации процесса образования NETs у  
253 высокоустойчивых животных не выявлено, тогда как у низкоустойчивых  
254 особей нейтрофильные ловушки формируются в 2 раза чаще, чем у  
255 контрольных животных данной линии.  
256

257 В группе высокорезистентных к недостатку кислорода крыс на  
258 фоне индуцированного аутоиммунного РА фагоцитоз приобретает более  
259 высокую результативность за счет появления высокоэффективных  
260 нейтрофилов, поглощающих по 9-12 частиц, что может быть результатом  
261 следующих событий. С одной стороны, начало процесса фагоцитоза  
262 сопряжено со связыванием фагоцитарных рецепторов иммуннокомпетентных  
263 клеток с лигандами на поглощаемой частице, активацией сигнальных путей,  
264 изменяющих состав мембраны, контролем актинового цитоскелета,  
265 образованием выступов, охватывающих частицу, что формирует фагосому,  
266 вскоре отделяющуюся от плазматической мембраны. Во время формирования  
267 фагосомы в результате упорядоченного синтеза одних липидных молекул на  
268 мембране фагосомы и деструкции других, липидный состав мембран везикул  
меняется. В совокупности с фагоцитозом осуществляются различные

269

270

271

272

273

274

275

276

277

278

279

280

281

282

283

284

клеточные реакции: образование активных форм кислорода, секреция провоспалительных медиаторов, высвобождение антимикробных молекулярных структур, выработка цитокинов. Следовательно, хемотаксис нейтрофилов, процесс образования фагосомы, формирование кислород-зависимой антимикробной активности находится в зависимости от взаимодействия флогенов с плазматической мембраной. Имеются данные, что высокорезистентные к гипоксии крысы обладают более высокими адаптивными механизмами глубины модификации фосфолипидного и жирно-кислотного состава плазматических и митохондриальных мембран на фоне низкорезистентных животных. Скорость реорганизации фосфолипидной и жирокислотной составляющих мембран определяется активностью митохондриальных ферментов, закреплена генетически и детерминируется их экспрессией. У высокотолерантных к гипоксии животных, в условиях недостаточной оксигенации, активность ферментных систем, обеспечивающих указанные выше процессы, имеет более высокие показатели, чем у низкотолерантных [23, 4, 10].

285

286

287

288

289

290

291

292

293

294

295

296

297

298

С другой стороны известно, что снижение количества кислорода, воздействующего на клетку при гипоксии, препятствует дифференцировке клеток, способствует индукции транскрипционного комплекса HIF, одна из субъединиц которого (HIF-1  $\alpha$ ) обуславливает экспрессию генов, отвечающих за ангиогенез, состояние сосудистого тонуса, механизмы созревания эритроцитов, энергетический статус, пролиферативную активность и выживаемость клеток. В условиях нормоксии HIF-1  $\alpha$  подвергается быстрой деградации. Имеются данные, что недостаточный синтез HIF-1 $\alpha$  в макрофагах нарушает их способность к фагоцитозу, в то время как повышение продукции HIF-1 способствуют увеличению синтеза TLR4, усиливая врожденные иммунные реакции [14, 26]. Животные же с низкой устойчивостью к гипоксии имеют генетически обусловленный высокий уровень HIF-1 $\alpha$ , опосредующий более высокую экспрессию генов NF- $\kappa$ B, что способствует усиленной продукции молекул адгезии, хемокинов,

299 миграции и снижению количества нейтрофилов, вступающих в апоптоз [25,  
300 17]. Учитывая сказанное выше, более выраженное напряжение эффекторных  
301 функций нейтрофилов в ходе системного воспалительного процесса у  
302 низкоустойчивых к гипоксии организмов на фоне высокоустойчивых,  
303 выявленное в нашем исследовании является закономерным.

#### 304 *Выводы*

305 По литературным данным, низкоустойчивые к гипоксии организмы  
306 генетически предрасположены к поддержанию высокого уровня HIF-1 $\alpha$ ,  
307 опосредующего более высокую экспрессию генов Nf- $\kappa$ b, а высокоустойчивые  
308 животные обладают генетически обусловленными механизмами,  
309 обеспечивающими метаболическое преимущество, многовариантность форм  
310 модификации фосфолипидного и жирно-кислотного состава мембран,  
311 скорости ферментативных процессов, что способствует высокой  
312 эффективности фагоцитоза.

313 Данные нашего исследования на уровне функционирования в условиях  
314 системного воспаления клеточного звена иммунитета разнотолерантных к  
315 гипоксии животных, подтверждают биохимические, молекулярно-  
316 генетические аспекты иммунообусловленных реакций, выявленных научным  
317 сообществом в последние годы:

318 1. у здоровых животных с генетически обусловленной различной  
319 устойчивостью к гипоксии линий НУ/SmY и ВУ/SmY количество  
320 нейтрофилов, участвующих в фагоцитозе достоверно не различалось;

321 2. здоровые высокотолерантные к недостаточной оксигенации  
322 крысы линии ВУ/SmY имеют повышенную способность в реализации  
323 внеклеточных эффекторных функций по сравнению с низкоустойчивыми:  
324 способность к образованию NETs на фоне флогенов в 1,4 раза ( $p \leq 0,05$ )  
325 выше;

326 3. количество нейтрофилов, вовлеченных в формирование NETs у  
327 линии НУ/SmY с модельным РА, в два раза превышало фоновые значения и в  
328 1,7 раза ( $p \leq 0,01$ ) – показатели опытной группы ВУ/SmY;

329 4. количество нейтрофилов, участвующих в процессе фагоцитоза  
330 на фоне модельного РА в опыте НУ/SmY, превосходило таковое в опытной  
331 группе линии ВУ/SmY в 1,2 раза  $p \leq 0,05$ ;

332 5. нейтрофилы высокотолерантных к гипоксии животных  
333 обладают более высокой эффективностью фагоцитоза в условиях системного  
334 воспаления, чем нейтрофилы низкоустойчивых (наличие  $1,81\% \pm 0,40$   
335 высокоэффективных нейтрофилов, поглощающих по 9-12 частиц).

#### 336 *Заключение*

337 Настоящее исследование выявило наличие большего напряжения на  
338 клеточно-опосредованное звено иммунитета в процессе ликвидации  
339 флогогена у крыс с генетически обусловленной низкой устойчивостью к  
340 гипоксии. Выявленное различие в реализации внеклеточных эффекторных  
341 функций нейтрофилов между здоровыми разнотолерантными животными  
342 может являться причиной развития у низкоустойчивых организмов более  
343 тяжелых патогенетических форм воспалительных и аутоиммунных  
344 заболеваний. Дальнейшие исследования по оценке влияния генетически  
345 закрепленной толерантности организмов к гипоксии на реализацию  
346 патогенетических механизмов системной воспалительной реакции могут быть  
347 полезны в области раскрытия новых аспектов этиологии  
348 иммунообусловленных заболеваний.

349

#### 350 **Благодарности:**

351 Авторы выражают глубокую благодарность главному ветеринарному  
352 врачу Филиала «Андреевка» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России Тишкиной  
353 Наталии Львовне за оказание помощи в приобретении линейных животных  
354 ВУ/SmY; НУ/SmY.

355 **Acknowledgements:** The authors would like to express their deep gratitude  
356 to Natalia Lvovna Tishkina, Chief Veterinarian of the Andreevka Branch of the  
357 Federal State Budgetary Educational Institution of the Russian Academy of  
358 Medical Sciences, for her assistance in acquiring linear animals.

ТАБЛИЦЫ

**Таблица 1.** Оценка активности фагоцитоза нейтрофилов у крыс линий НУ/SmY; ВУ/SmY с различной толерантностью к гипоксии в норме и при индуцированном воспалении в модели адьювантного РА.

**Table 1.** Evaluation of neutrophil phagocytosis activity in LR /SmY; HR/SmY /SmY rats with different tolerance to hypoxia in normal and induced inflammation in the adjuvant RA model.

Показатели фагоцитоза Indicators of phagocytosis	Стат. Показатели и Stat. indicators	Низкоустойчивые Низкорезистентные к гипоксии (НУ) Low-resistance hypoxia (LR)		Высокоустойчивые Высокорезистентные к гипоксии (ВУ) Highly resistant to hypoxia (HR)	
		Контроль Control	Опыт Experience	Контроль Control	Опыт Experience
Фагоцитарный индекс (%) Phagocytic index (%)	Me	52,50	66,00	48,75	55,50
	(C <sub>25</sub> -C <sub>75</sub> )	46,50-72,00	55,13-84,00	43,88-49,50	34,88-57,75
	p		0,05*	н/д*** n /r ***	н/д** n /r ** 0,05*****
Фагоцитарное число (ед). Phagocytic number (units).	Me	1,68	1,99	1,80	1,94
	(C <sub>25</sub> -C <sub>75</sub> )	1,36-1,91	1,73-2,09	1,65-2,00	1,92-2,05
	p		0,05*	н/д*** n /r ***	н/д** н/д*** н/д**** n /r ***

--	--	--	--	--	--

Достоверность различий между группами:

- \* - контрольной НУ и опытной НУ;
- \*\* - контрольной ВУ и опытной ВУ;
- \*\*\* - контрольной НУ и контрольной ВУ;
- \*\*\*\* - опытной НУ и опытной ВУ;

н/д – не достоверно.

Reliability of differences between groups:

- \* - control LR and experimental LR;
- \*\* - control HR and experimental HR;
- \*\*\* - control LR and control HR;
- \*\*\*\* - experienced LR and experienced HR;

n /r - not reliable.

**Таблица 2.** Динамика нетоза нейтрофилов в норме и в модели адьювантного ревматоидного артрита у крыс линий НУ/SmY; ВУ/SmY с разной устойчивостью к гипоксии.

**Table 2.** Dynamics of neutrophil netosis in normal and adjuvant rheumatoid arthritis models in LR /SmY; HR/SmY rats with different resistance to hypoxia.

Статистические показатели и Statistical indicators	Низкоустойчивые (НУ) Low-resistance to hypoxia (LR)		Высокоустойчивые (ВУ) Highly resistant to hypoxia (HR)	
	Контроль Control	Опыт Experience	Контроль Control	Опыт Experience
нейтрофилов с нетозом (%) neutrophils with netosis (%)				
Me	9,76	19,67	13,67	11,67
(C <sub>25</sub> -C <sub>75</sub> )	7,33-14,17	17,33-23,17	10,00-18,33	10,33-13,67
p		0,001*	0,05****	н/д ** n /r **

				0,01****
--	--	--	--	----------

Достоверность различий между группами:

- \* - контрольной НУ и опытной НУ;
- \*\* - контрольной ВУ и опытной ВУ;
- \*\*\* - контрольной НУ и контрольной ВУ;
- \*\*\*\* - опытной НУ и опытной ВУ;

н/д – не достоверно.

Reliability of differences between groups:

- \* - control LR and experimental LR;
- \*\* - control HR and experimental HR;
- \*\*\* - control LR and control HR;
- \*\*\*\* - experienced LR and experienced HR;

n / r - not reliable.

**Таблица 3.** Спектр фагоцитарной активности нейтрофилов у крыс линий НУ/SmY; ВУ/SmY в норме и при индуцированном системном воспалении.

**Table 3.** Spectrum of phagocytic activity of neutrophils in LR /SmY; HR/SmY rats in normal and induced systemic inflammation.

Количество частиц (ч.) Number of particles	Стат. показатели Stat. indicators	Количество нейтрофилов, захвативших от 1 до 12 частиц (%)			
		Низкоустойчивые (НУ) Low-resistance to hypoxia (LR)		Высокоустойчивые (ВУ) Highly resistant to hypoxia (HR)	
		Контроль Control	Опыт Experience	Контроль Control	Опыт Experience
1 ч	M±m	56,88±1,57	44,19±1,57	50,73±1,58	47,69±1,58
	p		0,001*	0,01***	н/д** n /r **  н/д**** n /r ****

2-4 ч	M±m	39,72±1,55	50,98±1,58	44,26±1,57	46,68±1,58
	p		0,001*	0,01***	н/д** н /г **  н/д**** н /г ****
5-8 ч	M±m	3,40±0,57	4,83±0,68	5,01±0,69	3,82±0,61
	p		0,001*	0,01***	н/д** н /г **  н/д**** н /г ****
9-12 ч	M±m	0	0	0	1,81±0,40
	p	-	-	-	0,01**; 0,01****

Достоверность различий между группами:

\* - контрольной НУ и опытной НУ;

\*\* - контрольной ВУ и опытной ВУ;

\*\*\* - контрольной НУ и контрольной ВУ;

\*\*\*\* - опытной НУ и опытной ВУ;

н/д – не достоверно.

Reliability of differences between groups:

\* - control LR and experimental LR;

\*\* - control HR and experimental HR;

\*\*\* - control LR and control HR;

\*\*\*\* - experienced LR and experienced HR;

n /r - not reliable.

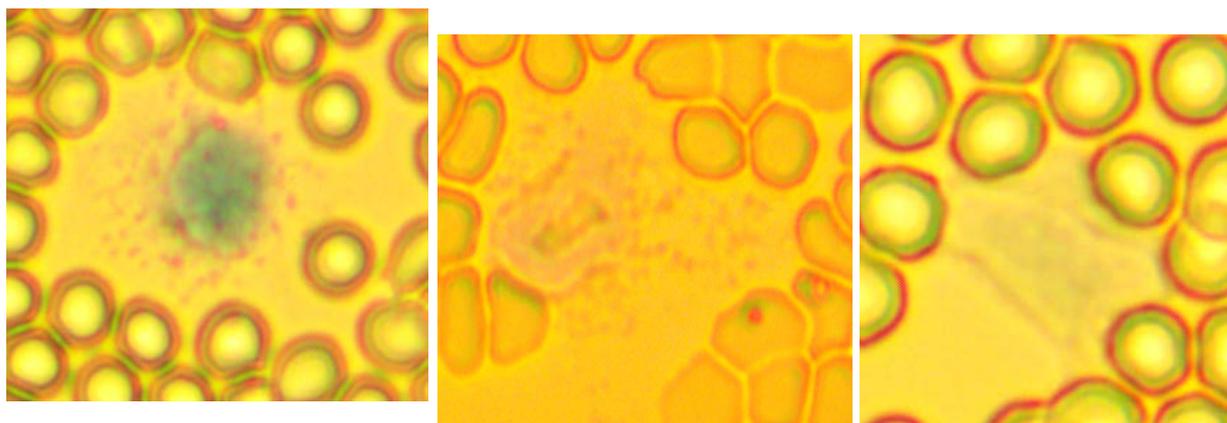
## РИСУНКИ

**Рисунок 1.** Морфологические формы нетоза (увеличение 400X):

а, б – нейтрофилы с частичной деконденсацией хроматина; в – нейтрофил с полной деконденсацией хроматина.

**Figure 1.** Morphological forms of netosis (magnification 400X):

а, b – neutrophils with partial decondensation of chromatin; c – neutrophils with complete decondensation of chromatin.



а (a)

б (b)

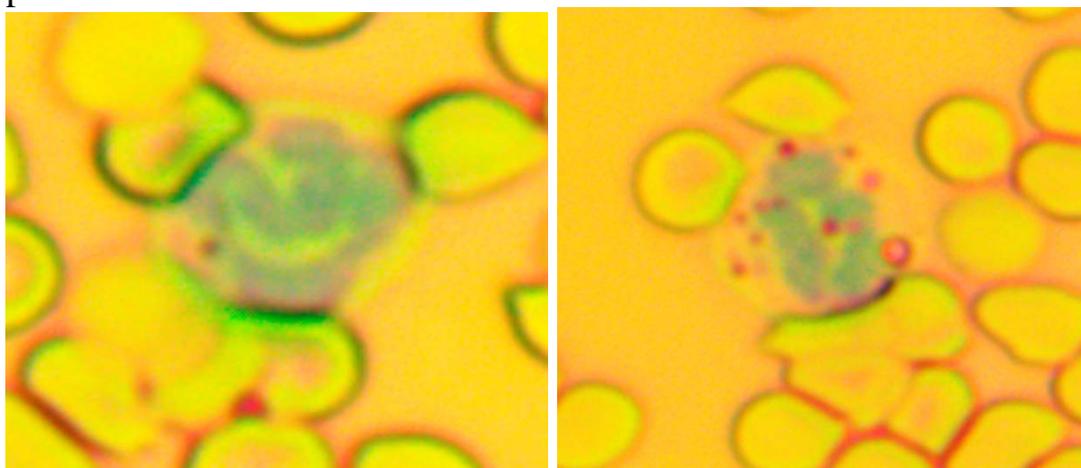
в (c)

**Рисунок 2.** Фагоцитоз нейтрофилов (увеличение 400X):

а – нейтрофил поглотивший 1 частицу; б- высокоэффективный нейтрофил, поглотивший 12 частиц.

**Figure 2.** Neutrophil phagocytosis (magnification 400X):

а – neutrophil that absorbed 1 particle; b- highly efficient neutrophil that absorbed 12 particles.



а (a)

б (b)

## ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ\_МЕТАДААННЫЕ

### **Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку**

**Пухаева Елена Георгиевна** (Владикавказ, Россия) – научный сотрудник лаборатории субклеточных структур, отдела молекулярных и клеточных механизмов аутоиммунных заболеваний, Института биомедицинских исследований, филиала Владикавказского научного центра РАН;

адрес: 363110, РСО-Алания, Пригородный р-н, с. Михайловское, ул. Вильямса 1;

телефон: 8(928)491-16-91;

ORCID iD: 0000-0003-0506-7776;

e-mail: [medgenetika435@yandex.ru](mailto:medgenetika435@yandex.ru)

**Elena Georgievna Pukhaeva** (Vladikavkaz, Russia) – Researcher at the Laboratory of Subcellular Structures, Department of Molecular and Cellular Mechanisms of Autoimmune Diseases, Institute of Biomedical Research, branch of the Vladikavkaz Scientific Center of the Russian Academy of Sciences;

address: 363110, North Ossetia-Alania, Prigorodny district, Mikhailovskoye village, Williams St. 1;

telephone: 8(928)491-16-91;

ORCID iD: 0000-0003-0506-7776;

e-mail: [medgenetika435@yandex.ru](mailto:medgenetika435@yandex.ru)

### **Блок 2. Информация об авторах**

**Бадтиев Алибек Кирилович** (Владикавказ, Россия) – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории субклеточных структур, отдела молекулярных и клеточных механизмов аутоиммунных заболеваний, Института биомедицинских исследований, филиала Владикавказского научного центра РАН;

**Alibek Kirilovich Badtiev** (Vladikavkaz, Russia) – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher at the Laboratory of Subcellular Structures, Department of Molecular and Cellular Mechanisms of Autoimmune Diseases, Institute of Biomedical Research, branch of the Vladikavkaz Scientific Center of the Russian Academy of Sciences;

**Саламова (Батагова) Фатима Эльбрусовна** (Владикавказ, Россия) – научный сотрудник лаборатории субклеточных структур, отдела молекулярных и клеточных механизмов аутоиммунных заболеваний, Института биомедицинских исследований, филиала Владикавказского научного центра РАН;

**Fatima Elbrusovna Salamova** (Batagova) (Vladikavkaz, Russia) is a researcher at the Laboratory of Subcellular Structures, Department of Molecular and Cellular Mechanisms of Autoimmune Diseases, Institute of Biomedical Research, branch of the Vladikavkaz Scientific Center of the Russian Academy of Sciences;

**Дзгоев Станислав Георгиевич** (Владикавказ, Россия) – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории субклеточных структур, отдела молекулярных и клеточных механизмов аутоиммунных заболеваний, Института биомедицинских исследований, филиала Владикавказского научного центра РАН;

**Stanislav Georgievich Dzgoev** (Vladikavkaz, Russia) – Candidate of Biological Sciences, researcher of the laboratory of subcellular structures, department of molecular and cellular mechanisms of autoimmune diseases, Institute of Biomedical Research, branch of the Vladikavkaz Scientific Center of the Russian Academy of Sciences;

**Купеева Алина Муратбековна** (Владикавказ, Россия) – младший научный сотрудник лаборатории субклеточных структур, отдела молекулярных и клеточных механизмов аутоиммунных заболеваний, Института биомедицинских исследований, филиала Владикавказского научного центра РАН;

**Alina Muratbekovna Kупееva** (Vladikavkaz, Russia) – Junior Researcher, Laboratory of Subcellular Structures, Department of Molecular and Cellular Mechanisms of Autoimmune Diseases, Institute of Biomedical Research, Branch of the Vladikavkaz Scientific Center of the Russian Academy of Sciences.

**Блок 3. Метаданные статьи**

РОЛЬ ГЕНЕТИЧЕСКИ ОБУСЛОВЛЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ  
ОРГАНИЗМА ТЕПЛОКРОВНЫХ К ГИПОКСИИ В РЕАЛИЗАЦИИ  
ЭФФЕКТОРНЫХ ФУНКЦИЙ НЕЙТРОФИЛОВ В МОДЕЛИ АДЬЮВАНТ-  
ИНДУЦИРОВАННОГО РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА

THE ROLE OF GENETICALLY DETERMINED BODY RESISTANCE OF  
WARM-BLOODED ANIMALS TO HYPOXIA IN THE REALIZATION OF  
EFFECTOR FUNCTIONS OF NEUTROPHILS IN THE MODEL OF  
ADJUVANT-INDUCED RHEUMATOID ARTHRITIS

**Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:**

УСТОЙЧИВОСТЬ К ГИПОКСИИ И ИММУНИТЕТ

HYPOXIA RESISTANCE AND IMMUNITY

**Ключевые слова:** системное воспаление, эффекторные функции  
нейтрофилов, фагоцитоз, нетоз, генетически обусловленная устойчивость к  
гипоксии, ревматоидный артрит.

**Keywords:** systemic inflammation, effector functions of neutrophils, phagocytosis,  
netosis, genetically determined resistance to hypoxia, rheumatoid arthritis.

Оригинальные статьи.

Количество страниц текста – 12,

Количество таблиц – 3,

Количество рисунков – 2.

05.04.2025

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер и ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи или ее doi.
1.	Бочкарева Л.А., Недосугова Л.В., Петунина Н.А., Тельнова М.Э., Гончарова Е.В. Некоторые механизмы развития воспаления при сахарном диабете 2 типа. Сахарный диабет. 2021; 24(4):334-341.	Bochkareva LA, Nedosugova LV, Petunina NA, Telnova ME, Goncharova EV. Some mechanisms of inflammation development in type 2 diabetes mellitus. Diabetes Mellitus. 2021;24(4):334-341	doi: 10.14341/DM12746
2.	Громько М.В., Грицук А.И. Экспериментальные модели ревматоидного артрита. Проблемы здоровья и экологии. 2012;(2):115-118.	Gromyko M.V., Gritsuk A.I. Experimental models of rheumatoid arthritis. Health and Ecology Issues. 2012;(2):115-118. (In Russ.)	<a href="https://doi.org/10.51523/2708-6011.2012-9-2-22">https://doi.org/10.51523/2708-6011.2012-9-2-22</a>

3.	Донина Ж.А., Баранова Е.В., Александрова Н.П. Сравнительная оценка влияния основных медиаторов острофазового ответа (ИЛ-1, ФНО- $\alpha$ и ИЛ-6) на паттерн дыхания и выживаемость крыс при острой нарастающей гипоксии. Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2021;107(8):996-1006.	Donina J.A., Baranova E.V., Alexandrova N.P. Comparative Assessment of the Effect of the Main Mediators of Acute Phase Response (IL-1, TNF- $\alpha$ and IL-6) on Breathing Pattern and Survival in Rats with Acute Progressive Hypoxia. I.M. Sechenov Russian Journal of Physiology. 2021;107(8):996-1006.	<a href="https://doi.org/10.31857/S086981392108004">https://doi.org/10.31857/S086981392108004</a>
4.	Жапаралиева Ч.О., Мухамедова И.П., Вишневский А. А. Изменения мембран эритроцитов и некоторых морфофункциональных особенностей головного мозга в условиях гипоксической гипоксии в группах крыс с различной устойчивостью к гипоксии // Ульяновский медико-	Japaralievа Ch.O., Muhamedova I.P., A.A., Vishnevskii I.P. Changes of membranes of erythrocytes and some morphological and functional features of the brain in the conditions of a hypoxemic hypoxemia in groups of rats with different resistance to hypoxia // Ulyanovsk	URL: <a href="https://cyberleninka.ru/article/n/izmeneniya-membran-eritrotsitov-i-nekotoryh">https://cyberleninka.ru/article/n/izmeneniya-membran-eritrotsitov-i-nekotoryh</a>

	биологический журнал. 2012. №1. - morfofunktsionalnyh-osobennostey-golovnoy-mozga-v-usloviyah-gipoksicheskoy-gipoksii-v (дата обращения: 02.04.2025).	Medical and Biological Journal. 2012. №1.	
5.	Зарубина И. В. Молекулярные механизмы индивидуальной устойчивости к гипоксии // Обзоры по клинич. фармакол. и лек. терапии. 2005.№1.	Zarubina I. V. Molecular mechanisms of individual resistance to hypoxia // Reviews on clinical. pharmacol. and lek. therapy. 2005. №1.e to hypoxia	URL: <a href="https://cyberleninka.ru/article/n/molekulyarnye-mehanizmy-individualnoy-ustoychivosti-k-gipoksii">https://cyberleninka.ru/article/n/molekulyarnye-mehanizmy-individualnoy-ustoychivosti-k-gipoksii</a> (дата обращения: 11.03.2025).
6.	Литвицкий П. Ф. Гипоксия. Вопросы современной педиатрии. 2016; 15 (1): 45-58.	Litvitsky P.F. Hypoxia. <i>Current Pediatrics</i> . 2016;15(1):45-58. (In Russ.)	<a href="https://doi.org/10.15690/vsp.v15i1.1499">https://doi.org/10.15690/vsp.v15i1.1499</a>
7.	Лукьянова Л. Д., Дудченко А. М., Белоусова В. В. Влияние различных концентраций кислорода на содержание АТФ в	Vliianie razlichnykh kontsentratsii kisloroda na sodержanie ATF v izolirovannykh gepatotsitakh	PMID: 7703447.

	<p>изолированных гепатоцитах адаптированных и неадаптированных к гипоксии крыс // Бюл. эксперим. биол. и мед. - 1994. - Т. 118, №12. -С. 576—58</p>	<p>adaptirovannykh i neadaptirovannykh k gipoksii krys [The effect of various concentration of oxygen on ATP level in isolated hepatocytes in rats adapted and not adapted to hypoxia]. Biull Eksp Biol Med. 1994 Dec;118(12):576-81. Russian.</p>	
8.	<p>Медведев, А. Н. Способ исследования поглотительной фазы фагоцитоза / А. Н. Медведев, А. Н. Маянский, В. В. Чаленко // Лабораторное дело. – 1991. – №2. – с. 19-20с. – EDN ZAVONB.</p>	<p>Medvedev, A. N. Method of studying the absorption phase of phagocytosis / A. N. Medvedev, A. N. Mayansky, V. V. Chalenko // Laboratory business. – 1991. – No. 2. – pp. 19-20. – EDN ZAVONB.</p>	
9.	<p>Нестерова И.В., Чудилова Г.А., Ломтатидзе Л.В. Ковалева С.В, Чапурина В.Н., Тетерин Ю.В. Расчетный индекс нейтрофильных</p>	<p>I.V. Nesterova, MD, PhD, Prof., G.A. Chudilova, DBS, L.V. Lomtatidze, PhD, S.V. Kovaleva, MD, PhD, V.N. Chapurina, PhD,</p>	<p>DOI 10.33978/2307-3586-2024-20-38-34-44</p>

	<p>гранулоцитов в дифференциальной диагностике степени тяжести бактериальных инфекционно-воспалительных заболеваний. Эффективная фармакотерапия. 2024; 20 (38): 34–44.</p>	<p>Yu.V. Teterin Nesterova I.V., Chudilova G.A., Lomtadze L.V. and others. The calculated index of neutrophilic granulocytes in the differential diagnosis of the severity of bacterial infectious and inflammatory diseases. Effective pharmacotherapy. 2024; 20 (38): 34–44.</p>	
<p>10.</p>	<p>Овсебян Л.М., Карагезян К.Г., Мелкумян А.В., Захарян Г.В. Взаимосвязь окислительного фосфорилирования и процесса перекисного окисления липидов в митохондриальной фракции головного мозга при гипоксии.// Биохимия. – 2006. – Т. 34. – С. 76–79.</p>	<p>Hovsepyan L.M., Karagezyan K.G., Melkumyan A.V., Zakharyan G.V. The relationship between oxidative phosphorylation and lipid peroxidation in the mitochondrial fraction of the brain during hypoxia.// Biochemistry. - 2006. – Vol. 34. – pp. 76-79.</p>	<p><a href="http://elib.sci.am/2006_4/10/10r.htm">http://elib.sci.am/2006_4/10/10r.htm</a></p>

11.	Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / под редакцией А. Н. Миронова – М.: Гриф и К, 2012. — 944 с. – С. 68.	Guidelines for conducting preclinical studies of medicines. Part one / edited by A. N. Mironov, Moscow: Grif and K, 2012. 944 p. – p. 68.	
12.	Cramer T, Yamanishi Y, Clausen BE, Förster I, Pawlinski R, Mackman N, Haase VH, Jaenisch R, Corr M, Nizet V, Firestein GS, Gerber HP, Ferrara N, Johnson RS. HIF-1alpha is essential for myeloid cell-mediated inflammation. Cell. 2003 Mar 7;112(5):645-57.	-	doi: 10.1016/s0092-8674(03)00154-5.
13.	Devraj G, Beerlage C, Brüne B, Kempf VA. Hypoxia and HIF-1 activation in bacterial infections. Microbes Infect. 2017;19(3):144–156.	-	doi: 10.1016/j.micinf.2016.11.003.

14.	.Fensterheim BA, Guo Y, Sherwood ER, Bohannon JK. The Cytokine Response to Lipopolysaccharide Does Not Predict the Host Response to Infection. J Immunol. 2017 Apr 15;198(8):3264-3273.	-	doi: 10.4049/jimmunol.1602106
15.	Gierlikowska B, Stachura A, Gierlikowski W and Demkow U (2021) Phagocytosis, Degranulation and Extracellular Traps Release by Neutrophils—The Current Knowledge, Pharmacological Modulation and Future Prospects. Front. Pharmacol. 12:666732.	-	doi: 10.3389/fphar.2021.666732
16.	Greer SN, Metcalf JL, Wang Y, Ohh M. The updated biology of hypoxia-inducible factor. EMBO J. 2012 May 30;31(11):2448-60.	-	doi: 10.1038/emboj.2012.125.

17.	Hirota K. Involvement of hypoxia-inducible factors in the dysregulation of oxygen homeostasis in sepsis. Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets. 2015;15(1):29-40.	-	doi: 10.2174/1871529x15666150108115553.
18.	Hochachka PW. Mechanism and evolution of hypoxia-tolerance in humans. J Exp Biol. 1998 Apr;201(Pt 8):1243-54.	-	doi: 10.1242/jeb.201.8.1243.
19.	Jantsch J, Wiese M, Schödel J, Castiglione K, Gläsner J, Kolbe S, Mole D, Schleicher U, Eckardt KU, Hensel M, Lang R, Bogdan C, Schnare M, Willam C. Toll-like receptor activation and hypoxia use distinct signaling pathways to stabilize hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$ (HIF1A) and result in differential HIF1A-dependent gene expression. J Leukoc Biol. 2011 Sep;90(3):551-62.	-	doi: 10.1189/jlb.1210683.

20.	Kiers H.D., Scheffer G.-J., van der Hoeven J.G., Eltzschig H.K., et al. Immunologic Consequences of hypoxia during critical illness. <i>Anesthesiology</i> . 2016; 125 (1): 237-49.	-	doi: 10.1097/ ALN.0000000000001163
21.	Peyssonaux C, Datta V, Cramer T, Doedens A, Theodorakis EA, Gallo RL, Hurtado-Ziola N, Nizet V, Johnson RS. HIF-1alpha expression regulates the bactericidal capacity of phagocytes. <i>J Clin Invest</i> . 2005 Jul;115(7):1806-15.	-	doi: 10.1172/JCI23865.
22.	Song D, Li LS, Arsenault PR, Tan Q, Bigham AW, Heaton-Johnson KJ, Master SR, Lee FS. Defective Tibetan PHD2 binding to p23 links high altitude adaption to altered oxygen sensing. <i>J Biol Chem</i> . 2014 May 23;289(21):14656-65.	-	doi: 10.1074/jbc.M113.541227.

23.	Uribe-Querol E and Rosales C (2020) Phagocytosis: Our Current Understanding of a Universal Biological Process. <i>Front. Immunol.</i> 11:1066.	-	doi: 10.3389/fimmu.2020.01066
24.	Wang JS, Chiu YT. Systemic hypoxia enhances exercise-mediated bactericidal and subsequent apoptotic responses in human neutrophils. <i>J Appl Physiol</i> (1985). 2009 Oct;107(4):1213-22.	-	doi: 10.1152/jappphysiol.00316.2009.
25.	Xiu Q, Kong C, Gao Y, Gao Y, Sha J, Cui N, Zhu D. Hypoxia regulates IL-17A secretion from nasal polyp epithelial cells. <i>Oncotarget.</i> 2017 Oct 31;8(60):102097-102109.	-	doi: 10.18632/oncotarget.22189
26.	Zagórska A, Dulak J. HIF-1: the knowns and unknowns of hypoxia sensing. <i>Acta</i>	-	PMID: 15448722.

	Biochim 2004;51(3):563-85.	Pol.		
--	-------------------------------	------	--	--