

Антиоксидантная активность водных экстрактов лекарственных растений

А.А. Чиркин*, Е.И. Коваленко**, Г.Н. Бузук***, Т.А. Толкачева*

*Учреждение образования «Витебский государственный университет им. П.М. Машиерова»

**Белорусский государственный университет

***Учреждение образования «Витебский государственный медицинский университет»

В настоящем исследовании проведено ранжирование лекарственных растений по выраженности антиоксидантной активности при моделировании окислительного стресса у нейтрофильных лейкоцитов. Измельченное растительное сырье (100 мг) заливали дистиллированной водой (20 мл) и выдерживали на водяной бане (100°C) в течение 15 минут, затем настаивали в течение 1 часа при комнатной температуре. Нейтрофилы изолировали из крови здоровых доноров разделением в градиенте плотности фиколл-урографина. Определение интенсивности генерации активных метаболитов кислорода клетками проводили методом люминол-зависимой хемилюминесценции. Было исследовано влияние водных экстрактов растений на процессы формирования активных метаболитов кислорода в нейтрофилах при их активации в ходе адгезии на поверхность стекла, при действии хемотаксического пептида fMLP, стимуляции клеток к фагоцитозу частицами латекса. Для количественной оценки способности веществ подавлять реакцию пероксидазного окисления были изучены концентрационные зависимости и определены концентрации экстрактов, при которых наблюдается 50%-ное ингибирование люминол-зависимой хемилюминесценции (C₅₀). Из 25 исследованных растений наибольшим антиоксидантным действием, способностью ингибировать активность пероксидаз и подавлять активность нейтрофилов при адгезии, действии хемоаттрактанта и при индуцировании фагоцитоза обладают водные экстракты зверобоя, лабазника, руты.

Ключевые слова: лекарственные растения, хемилюминесценция, нейтрофилы, окислительный стресс, антиоксидантная активность.

Antioxidant activity of medicinal plants aqueous extracts

A.A. Chirkin*, E.I. Kovalenko**, G.N. Buzuk***, T.A. Tolkacheva*

*Educational establishment «Vitebsk State University named after P.M. Masherov»

**Belarussian State University

***Educational establishment «Vitebsk State Medical University»

The purpose of this study was to rank the severity of medicinal plants according to their antioxidant activity in the simulation of oxidative stress in neutrophils. Chopped plant material (100 mg) was filled with distilled water (20 ml) and incubated in a water bath (100°C) for 15 minutes, then was let to draw for 1 hour at room temperature. Neutrophils were isolated and separated from blood of healthy donors using density gradient Ficoll-Urografin. Finding out the intensity of reactive oxygen metabolites by cells was performed by luminol-dependent chemical luminescence method. The influence of aquatic plant extracts on the processes of building up active oxygen metabolites in neutrophils at their activation during adhesion on the glass surface while the impact of chemotactic peptide fMLP and stimulation of cells to phagocytosis by latex particles was investigated. To quantify the ability of agents to suppress the reaction of peroxidase oxidation, concentration dependence was studied and concentration of extracts, in which the observed 50% inhibition of luminol-dependent chemiluminescence (C₅₀), were defined. Of the 25 investigated plants the highest antioxidant effect, the ability to inhibit the activity of peroxidases and suppress the activity of neutrophils during adhesion and impact of chemoattractants in inducing phagocytosis, water extracts of *Hypericum*, *Filipendulae* and *Rue* possess.

Key words: medicinal plants, chemiluminescence, neutrophils, oxidative stress, antioxidant activity.

Жизнедеятельность живых организмов предполагает протекание окислительных процессов с образованием высокоактивных окислителей. Поскольку последние могут вызывать повреждение клеток, их концентрация контролируется и поддерживается в определенных рамках с помощью специальных защитных антиоксидантных систем. В норме существует определенный окислительно-восстановительный баланс, но в условиях патологии может происходить истощение пула восстановителей, снижение активности антиоксидантных ферментов, что приводит к повреждению тканей под действием активных кислородных метаболитов (активных метаболитов кислорода –

АМК) и развивается окислительный стресс. В настоящее время также существуют концепции галогенирующего и нитросативного стресса. Отмечено, что очень многие патологии либо вызваны, либо промотируются при действии свободных радикалов, АМК, редокс-ферментов. Причем, ключевую роль в таких событиях могут играть фагоцитирующие клетки крови, в частности, нейтрофилы, которые используют АМК и активные формы хлора для уничтожения патогенного материала в процессе воспаления. Известно, что способность нейтрофилов выполнять свои функции и уничтожать патогенный материал в ходе фагоцитоза, как правило, снижается. В подобных случаях особенно

перспективными могут оказаться лекарственные вещества, обладающие как антиоксидантным, так и антимикробным действием, не оказывающие угнетающего действия на фагоцитарную функцию клеток. Некоторые организмы наиболее приспособлены к защите от окислительного стресса, в них «сконденсированы» компоненты с высокой антиокислительной активностью. К таким биообъектам относится ряд лекарственных растений.

В середине 90-х годов прошлого века начала разрабатываться концепция метаболической терапии с использованием не только синтетических метаболитов – лекарственных средств, но и природных композиций биополимеров и низкомолекулярных биорегуляторов [1–4]. К этим средствам относили вещества из солянки холмовой, расторопши и многие другие. Использование данных лекарственных композиций существенно снизило заболеваемость лиц, подверженных действию хронического нервно-психического напряжения [5]. Однако без четкой привязанности фармакодинамики химических компонентов растений тем или иным структурам вторичных метаболитов развитие метаболической терапии невозможно [6].

Целью настоящего исследования явилось ранжирование лекарственных растений по выраженности антиоксидантной активности при моделировании окислительного стресса у нейтрофильных лейкоцитов.

Материал и методы. В работе использованы декстран-500, фиколл-400, 30%-ный раствор H_2O_2 , люминол, fMLP, пероксидаза хрена («Sigma», США); урографин («Schering AG», Германия); гепарин, латекс («Белмедпрепараты», Беларусь), NaCl, KCl, $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, $CaCl_2$, $NaHCO_3$, глюкоза («Анализ-Х», Беларусь).

В качестве объектов исследования были использованы 25 растений, приведенных в табл. 1. В этой таблице также указаны основные группы биологически активных веществ этих растений, ответственные за их фармакодинамику.

Получение экстрактов растений. Водные экстракты растений готовили следующим образом. Измельченное растительное сырье (100 мг) заливали дистиллированной водой (20 мл) и выдерживали на водяной бане (100°C) в течение 15 минут, затем настаивали в течение 1 часа при комнатной температуре. Полученные суспензии фильтровали, получая в результате прозрачные желтовато-коричневые экстракты без мутных примесей.

Выделение нейтрофилов из крови людей. Нейтрофилы изолировали из крови здоровых

доноров разделением в градиенте плотности фиколл-урографина по методу [7], в нашей модификации. Консервированную с гепарином кровь перемешивали из расчета 5:1 с 7%-ным раствором декстрана-500 в 0,15 моль/л NaCl и инкубировали в течение 60 мин для седиментации эритроцитов при комнатной температуре. В пробирки наливали по 2 мл фиколл-урографина (собственного приготовления, плотность 1,077 г/см³), на который осторожно наслаивали по 9 мл содержащей лейкоциты плазмы, полученной в результате оседания эритроцитов, и центрифугировали в течение 30 мин при 400 g для разделения лейкоцитов по плотности. После центрифугирования всю надосадочную жидкость удаляли, осадок, содержащий фракцию гранулоцитов, очищали от оставшихся эритроцитов, проводя гипотонический лизис в дистиллированной воде в течение 20 с. Осмотичность восстанавливали добавлением 0,3 моль/л NaCl. Затем клетки дважды отмывали в 0,15 моль/л NaCl, центрифугируя в течение 10 мин при 400 g. Полученную фракцию гранулоцитов суспензировали в сбалансированном солевом растворе Эрла (СБСР) при pH 7,4. В полученной фракции клеток содержание нейтрофилов составляло не менее 96%.

Регистрация генерации активных метаболитов кислорода. Определение интенсивности генерации АМК клетками проводили методом люминол-зависимой хемилюминесценции (ЛЗХЛ) [8–9]. В стеклянную кювету вносили экстракты растений (2, 10, 50 мкл; в контрольных образцах – равное количество СБСР Эрла), суспензию нейтрофилов (1 млн клеток), люминол (25 мкмоль/л) как эмиттер свечения, $CaCl_2$ (2 ммоль/л) и доводили объем пробы до 1 мл добавлением СБСР Эрла (pH=7,4). Помещали кювету в камеру биохемилуциметра БХЛ-1 («БГУ» – «Новые аналитические системы», Беларусь) и регистрировали кинетические зависимости интенсивности ЛЗХЛ, обусловленной генерацией АМК нейтрофилами при адгезии, в течение 10 минут, затем вносили хемоаттрактант fMLP (0,75 мкмоль/л) и регистрировали кинетику ЛЗХЛ в течение 4 минут, после чего добавляли латекс (20 мкл разведенной в 50 раз базовой суспензии) и регистрировали кинетическую зависимость интенсивности ЛЗХЛ в течение 5 минут. Далее, проводили расчет интегральной интенсивности ЛЗХЛ за соответствующие временные промежутки с использованием программы Unichrom («Новые аналитические системы», Беларусь). Исследования осуществляли при температуре 37°C.

Исследуемые лекарственные растения

Русское название	Латинское название	Действующие вещества
Зверобой продырявленный трава	Hypericum perforatum	Антрахиноны, флавоноиды, проантоцианидины
Лабазник вязолистный цветки	Filipendula ulmaria	Флавоноиды
Рута душистая трава	Ruta graveolens	Алкалоиды, флавоноиды
Донник лекарственный трава	Melilotus officinalis	Кумарины, флавоноиды
Пустырник сердечный трава	Leonurus cardiaca	Флавоноиды, иридоиды
Эхинацея пурпурная трава	Echinacea purpurea	Коричные кислоты, полисахариды
Пижма бальзамическая (Кануфер) трава	Tanacetum balsamita	Эфирное масло, флавоноиды
Черда трехраздельная трава	Biden stripartita	Флавоноиды, полиацетилены, полисахариды
Брусника обыкновенная листья	Vaccinium vitisidaea	Фенолгликозиды, флавоноиды, таннины
Береза пушистая листья	Betula pubescens	Флавоноиды, таннины
Чистотел большой трава	Chelidonium majus	Алкалоиды, флавоноиды
Каштан семена	Aesculus hippocastanum	Сапонины
Буквица лекарственная трава	Betonica foliosa	Флавоноиды, иридоиды
Кукуруза (рыльца)	Zea mays	Флавоноиды
Крапива двудомная листья	Urtica dioica	Коричные кислоты, флавоноиды
Маклейя сердцевидная листья	Macleaya cordata	Алкалоиды, флавоноиды
Малина обыкновенная листья	Rubus idaeus	Флавоноиды, таннины
Репешок аптечный трава	Agrimonia eupatoria	Флавоноиды, таннины
Хвощ полевой трава	Equisetum arvense	Флавоноиды
Лещина обыкновенная листья	Corylus avellana	Флавоноиды, таннины
Фиалка трехцветная трава	Viola tricolor	Флавоноиды, эфирное масло
Сабельник болотный корневища	Comarum palustre	Проантоцианидины, флавоноиды
Каштан цветки	Aesculus hippocastanum	Флавоноиды, кумарины
Полынь божье дерево трава	Artemisia abrotanum	Флавоноиды, эфирные масла
Левзея сафлоровидная листья	Leuzea carthamoides	Экдистероиды, флавоноиды

Исследование влияния экстрактов трав на реакцию пероксидазного окисления. Пероксидаза хрена (ПХ), как и другие пероксидазы, катализирует окисление субстратов в присутствии H_2O_2 . При использовании люминола в качестве субстрата образуется окисленная форма люминола в возбужденном состоянии (3-аминофталаат), которая далее переходит в основное энергетическое состояние с выделением лишней энергии в виде световых импульсов, регистрируется ЛЗХЛ. Регистрацию ЛЗХЛ проводили с использованием компьютеризированного измерительного комплекса, включающего биохемиллюминетр БХЛ-1 (Белгосуниверситет, Беларусь) и систему регистрации и обработки сигналов Unichrom («Новые аналитические системы», Беларусь). В стеклянную кювету для БХЛ-1 вносили ПХ (0,6 нг/л), растительный экстракт (использованы концентрации от 0,001 мкл/мл до 50 мкл/мл), люминол

(25 мкмоль/л), СБСР Эрла pH 7,4 до полного объема пробы 1 мл. Кювету помещали в кюветное отделение БХЛ-1, затем в темноте инициировали реакцию окисления, внося в кювету 20 мкмоль/л H_2O_2 , и регистрировали кинетические зависимости интенсивности ЛЗХЛ. После этого с помощью программы «Unichrom» рассчитывали интегральную интенсивность ЛЗХЛ за время 1,5 мин. Этот параметр характеризует скорость реакции, катализируемой ПХ.

Результаты и их обсуждение. Исследовано влияние водных экстрактов растений на процессы формирования АМК в нейтрофилах при их активации в ходе адгезии на поверхность стекла, при действии хемотаксического пептида fMLP, стимуляции клеток к фагоцитозу частицами латекса. Данные виды стимуляции выбраны для моделирования процессов активации нейтрофилов в организме, в частности адгезии клеток на эндотелий и другие ткани организма,

направленной миграции к очагу воспаления, фагоцитоза нейтрофилами частиц.

Следует отметить, что все указанные процессы связаны с активацией метаболизма нейтрофилов, респираторным взрывом и формированием АМК с участием ключевого редокс-фермента – НАДФН-оксидазы, а также сопряжены с процессом дегрануляции и активацией фермента миелопероксидазы (МПО) [10–11]. НАДФН-оксидаза и МПО приводят к генерации следующих АМК: $\cdot\text{O}_2^-$, $\cdot\text{OH}$, H_2O_2 , OCI^- , с которыми в экспериментальной пробе вступает в химическое взаимодействие люминол, добавляемый в качестве эмиттера свечения, в результате чего формируется продукт в возбужденном состоянии и возникает люминесценция (ЛЗХЛ) [8, 12].

Показано, что при адгезии нейтрофилов на поверхность стекла, при внесении fMLP и при действии латекса наблюдается ЛЗХЛ, обусловленная активностью НАДФН-оксидазы и пероксидазы нейтрофилов МПО [9, 12].

Поскольку работа с клеточным материалом требует значительных затрат времени и средств, предварительную оценку антиокислительных свойств различных веществ на генерацию АМК в нейтрофилах можно выполнять на бесклеточных системах, содержащих пероксидазы и их субстраты, что позволяет снизить затраты на исследования. Нами проведено изучение свойств экстрактов растений с использованием бесклеточной системы «пероксидаза хрена + пероксид водорода + люминол», в которой пероксидазное окисление люминола пероксидом водорода также сопровождается возникновением ЛЗХЛ.

Обнаружено, что в присутствии экстрактов исследованных растений имеет место снижение интенсивности ЛЗХЛ. Для количественной оценки способности веществ подавлять реакцию пероксидазного окисления были изучены концентрационные зависимости и определены концентрации экстрактов, при которых наблю-

дается 50%-ное ингибирование ЛЗХЛ (C_{50}). Диапазон использованных концентраций от 0,001 мкл/мл до 50 мкл/мл экстракта в образце. На основании полученных результатов все вещества были разделены на группы, как указано в табл. 2. Растения относили к группам 1–5 по мере ослабления антиокислительных свойств их экстрактов. В группу 6 включены растения, экстракты которых приводили не к ослаблению, а повышению интенсивности ЛЗХЛ.

Для исследований способности экстрактов растений снижать интенсивность генерации АМК активированными нейтрофилами были использованы концентрации экстрактов 50 мкл на 1 мл пробы (5%), 10 мкл на 1 мл пробы (1%), 2 мкл на 1 мл пробы (0,2%). Все эксперименты были повторены 3–5 раз, для анализа использованы средние значения и отклонения от среднего. Ингибирующее действие экстрактов рассчитывали в процентах относительно контроля, не содержащего экстракт.

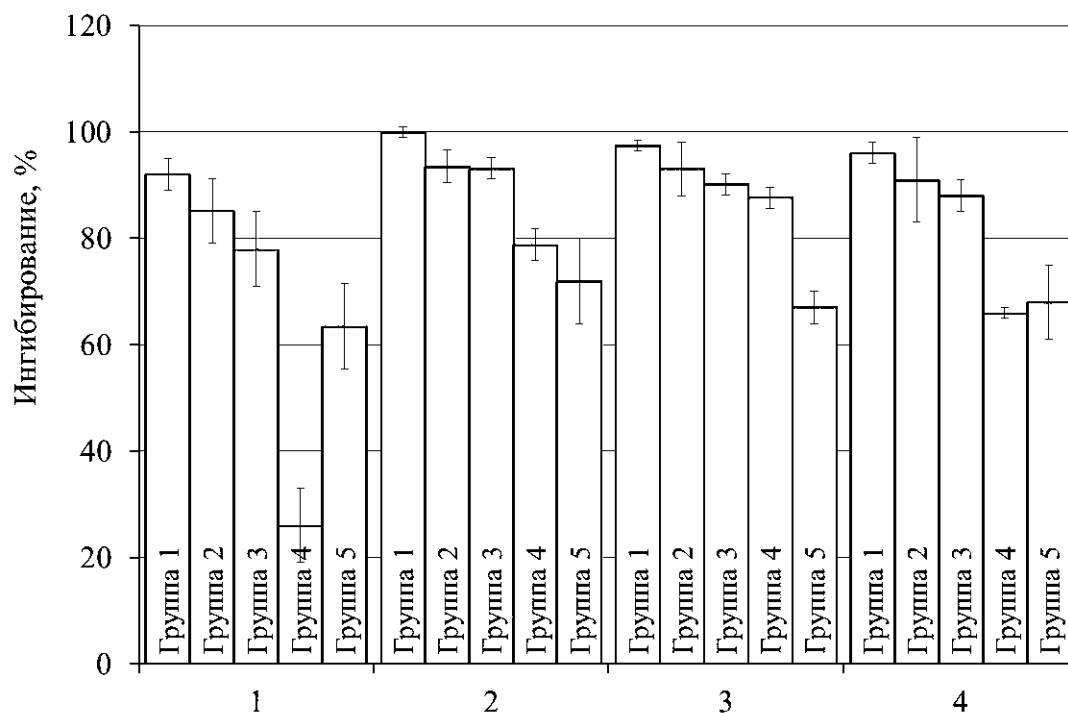
На рис. 1 и в табл. 3 представлены данные, характеризующие влияние экстрактов растений на ЛЗХЛ нейтрофилов, обусловленную генерацией активированными клетками АМК, при внесении экстракта в концентрации 50 мкл на 1 мл суспензии.

Как видно из данных, представленных на рис. 1 и в табл. 3, при внесении экстрактов в дозе 50 мкл на 1 мл суспензии нейтрофилов (содержание клеток 1 млн/мл) экстракты растений, отнесенных к группам 4 и 5, вызывают более слабые эффекты, чем экстракты групп 1–3. Экстракты группы 4 приводят к снижению выхода АМК при адгезии нейтрофилов менее чем на 40%, а при действии fMLP и латекса – на 80–90%. Экстракты растений группы 5 схожим образом влияют на генерацию АМК при всех видах стимулирующих воздействий и приводят к снижению выхода АМК на 60–80%. Наибольшие ингибирующие эффекты выявлены при действии экстрактов растений группы 1, снижавших выход АМК на 90–100%.

Таблица 2

Разделение растений на группы по способности ингибировать реакции окисления, катализируемые пероксидазой (ПХ)

Группа 1	Зверобой, лабазник, рута ($C_{50} < 0,001$ мкл/мл)
Группа 2	Донник, пустырник (C_{50} от 0,001 до 0,01 мкл/мл)
Группа 3	Эхинацея, кануфер, череда, брусника, береза, чистотел (C_{50} от 0,01 до 0,05 мкл/мл)
Группа 4	Каштан (плоды), буквица, кукурузные рыльца, крапива, маклея, малина, репешок (C_{50} от 0,05 до 0,1 мкл/мл)
Группа 5	Хвощ, фиалка (C_{50} более 0,1 мкл/мл)
Группа 6	Лещина, сабельник, каштан (цветы), божье дерево, левзея



- 1 – клетки активированы в процессе адгезии;
 2 – клетки активированы под действием fMLP;
 3 – клетки активированы при действии латекса;
 4 – усредненные значения первых 3-х параметров для каждого экстракта.

Рис. 1. Влияние экстрактов растений на ЛЗХЛ нейтрофилов, обусловленную генерацией активированными клетками АМК, при внесении в дозе 50 мкл экстракта на 1 мл суспензии.

Таблица 3

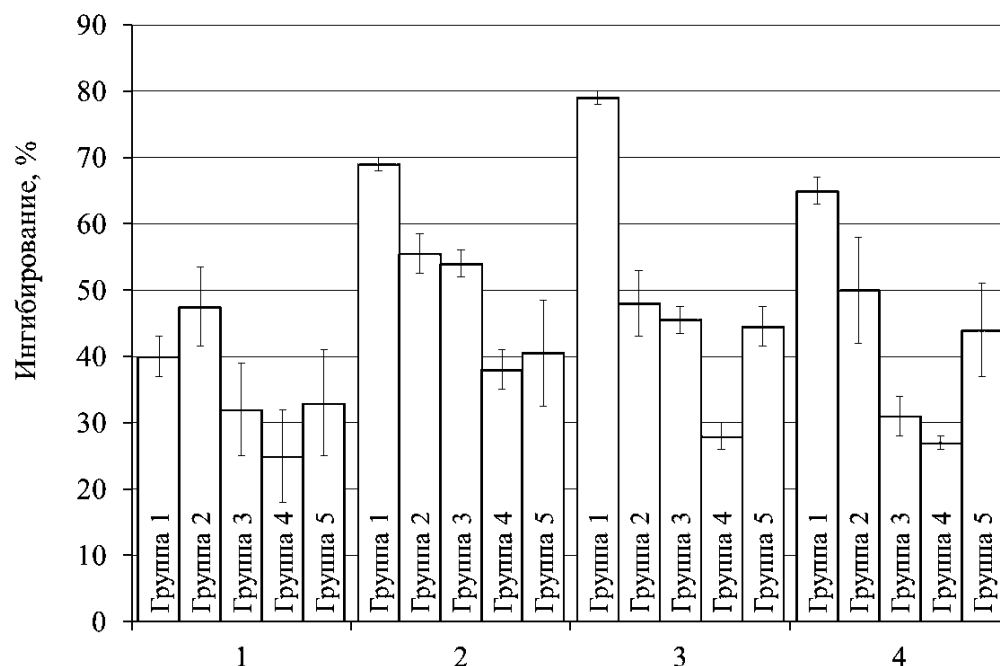
Влияние экстрактов растений на ЛЗХЛ нейтрофилов, обусловленную генерацией активированными клетками АМК, при внесении в концентрации 50 мкл экстракта на 1 мл суспензии

Группа растений	Ингибирование генерации АМК в нейтрофилах, %			
	При адгезии клеток	При активации клеток fMLP	При фагоцитозе латекса	Среднее значение
Группа 1	92±3	100±1	97±1	96±2
Группа 2	85±6	94±3	93±5	91±8
Группа 3	78±7	93±2	90±2	88±3
Группа 4	26±7	79±3	88±2	66±1
Группа 5	64±8	72±8	67±3	68±7

На рис. 2 и в табл. 4 показаны результаты, полученные при использовании экстрактов в концентрации 10 мкл/мл. Выявлено, что и в данном случае наибольшим ингибирующим действием обладают экстракты растений групп 1 и 2, особенно группы 1 (зверобой, лабазник, рута). Экстракты растений группы 1 в большей степени ингибировали генерацию нейтрофилами АМК при стимуляции клеток хемотаксиче-

ским агентом fMLP (на 69±1%) и индуктором фагоцитоза латексом (на 79±1%), тогда как при стимуляции клеток в ходе адгезии на стекло степень ингибирования составляла лишь 40±3%.

При концентрации экстрактов 2 мкл/мл получены аналогичные соотношения (данные не показаны). Для экстрактов растений группы 6 в концентрациях 2–50 мкл/мл отмечено повышение выхода АМК при стимуляции нейтрофилов.



- 1 – клетки активированы в процессе адгезии;
 2 – клетки активированы под действием fMLP;
 3 – клетки активированы при действии латекса;
 4 – усредненные значения первых 3-х параметров для каждого экстракта.

Рис. 2. Влияние экстрактов растений на ЛЗХЛ нейтрофилов, обусловленную генерацией активированными клетками АМК, при внесении в концентрации 10 мкл экстракта на 1 мл суспензии.

Таблица 4

Влияние экстрактов растений на ЛЗХЛ нейтрофилов, обусловленную генерацией активированными клетками АМК, при внесении в концентрации 10 мкл экстракта на 1 мл суспензии

Группа растений	Ингибирование генерации АМК в нейтрофилах, %			
	При адгезии клеток	При активации клеток fMLP	При фагоцитозе латекса	Среднее значение
Группа 1	40±3	69±1	79±1	65±2
Группа 2	48±6	56±3	48±5	50±8
Группа 3	32±7	54±2	46±2	31±3
Группа 4	25±7	38±3	28±2	27±1
Группа 5	33±8	41±8	45±3	44±7

Отмечено, что концентрации экстрактов растений, необходимые для ингибирования генерации АМК клетками, на несколько порядков выше, чем концентрации, необходимые для ингибирования пероксидазного окисления непосредственно в среде (бесклеточной). Причиной таких различий может быть препятствующее действие клеточных мембран проникновению компонентов экстрактов внутрь клеток.

Заключение. Таким образом, можно заключить, что наибольшим антиокислительным действием, способностью ингибировать активность пероксидаз и подавлять активность нейтрофилов при адгезии, действии хемоаттрактанта и при индуцировании фагоцитоза обладают водные экстракты зверобоя, лабазника, руты.

Однако следует отметить, что в результате проведенных исследований тесной связи между

химической природой основной группы действующих веществ и антиоксидантной активностью растений не удалось выявить. По-видимому, это обусловлено наличием конкретных соединений из каждой большой группы химических веществ (например, гиперфорином и гиперцинами в траве зверобоя, флавоноидом спиреозидом в цветках лабазника и т.д.). В настоящее время данные об их сравнительной антиоксидантной активности отсутствуют. Отсюда следует важная проблема поиска конкретных химических молекул, ответственных за антиоксидантное действие водного экстракта каждого из растений.

Работа поддержана грантом БРФФИ (договор № Б11ВТ-007).

ЛИТЕРАТУРА

1. Chirkin, A.A. Determination of a insulin-like effect of extract *Salsola Collina* by means of epididymal lipocytes and regenerating hepatocytes / A.A. Chirkin [et al.] // *Exper. and toxicologic pathology*. – 1996. – Vol. 48, № 5. – P. 342.
2. Chirkin, A.A. Apoptosis, necrosis and hepatotropic preparations / A.A. Chirkin, E.O. Danchenko, R. Dargel // *Medical Science, Internat. Med. J. Experim. Clin. Research*. – 1999. – Vol. 5, Suppl. 1. – P. 109–115.
3. Чиркин, А.А. Аминокислотный состав определяет фармакодинамику экстракта солянки холмовой / А.А. Чиркин [и др.] // В кн.: Аминокислоты и их производные в биологии и медицине: материалы 2 Междунар. науч. конф. – Гродно, 2001. – С. 112–113.
4. Чиркин, А.А. Аминокислотный спектр природных гепатотропных препаратов / А.А. Чиркин [и др.] // *Лекарственные средства и биологически активные соединения: материалы междунар. науч.-практ. конф.* – Гродно, 2007. – С. 187–188.
5. Чиркин, А.А. Диагностика, лечение и профилактика сердечно-сосудистых заболеваний (опыт медиков Белорусской железной дороги) / А.А. Чиркин, В.В. Шваренок, Э.А. Доценко. – Минск: ОДО «Триолета», 2003. – 394 с.
6. Zheng, W. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs / W. Zheng, S.Y. Wang // *J. Agric. Food. Chem.* – 2001. – Vol. 49, № 11. – P. 5165–5170.
7. Бейум, А. Выделение лимфоцитов, гранулоцитов и макрофагов / А. Бейум // *Лимфоциты: выделение, фракционирование и характеристика*. – М.: Медицина, 1980. – С. 9–36.
8. Mueller, S. Light emission by luminol and its application / S. Mueller, J. Arnold // Albrecht S., Zimmermann T., Brandl H. *Chemiluminescence at the turn of the millennium an indispensable tool in modern chemistry, biochemistry and medicine*. – Dresden: Schweda-Werbedruck-Verlag, 2000. – P. 23–28.
9. Kavalenka, A.I. Effects of hydrogen peroxide on neutrophil ability to generate reactive oxygen and chlorine species and to secrete myeloperoxidase in vitro / A.I. Kavalenka, G.N. Semenkova, S.N. Cherenkevich // *Cell and Tissue Biology*. – 2007. – Vol. 1, № 6. – P. 551–559.
10. Borregaard, N. Granules and vesicles of human neutrophils. The role of endomembranes as source of plasma membrane proteins / N. Borregaard, L. Kjeldsen, K. Lollike // *Eur J. Haematol.* – 1993. – Vol. 51. – P. 318–322.
11. Babior, B.M. NADPH oxidase: an update / B.M. Babior // *Blood*. – 1999. – Vol. 93, № 5. – P. 1464–1476.
12. Kavalenka, A.I. Systems of reactive oxygen species generation in human neutrophils: chemiluminescent analysis / A.I. Kavalenka [et al.] // *Clin. Lab.* – 2003. – Vol. 49. – P. 566.

Поступила в редакцию 20.01.2012. Принята в печать 20.02.2012

Адрес для корреспонденции: 210038, г. Витебск, Московский пр-т, д. 33, e-mail: chir@tut.by – Чиркин А.А.

