

©М. І. Марущак

ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського”

МІТОХОНДРІАЛЬНІ МЕХАНІЗМИ АПОПТОЗУ ПРИ ГОСТРОМУ УШКОДЖЕННІ ЛЕГЕНЬ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Резюме. Розглядаючи механізми реалізації апоптозу клітини, важливе місце приділяється мітохондріям, які утворюють складну систему, являючись як мішенями, так і продуцентами активних форм кисню. Дослідження, проведені в останні роки, показали чіткі докази центральної ролі мітохондрій в інтеграції більшості внутрішньоклітинних сигнальних шляхів, що ведуть клітину до загибелі.

Мета дослідження – встановити роль мітохондрій в ініціації апоптозу як одного з механізмів гострого ушкодження легень (ГУЛ).

Матеріали і методи. Дослідження проведені на 106 статевозрілих білих нелінійних щурах-самцях. Для дослідження шляхів ініціації апоптозу встановлювали кількість нейтрофільних гранулоцитів, рівень активних форм оксигену, кількість нейтрофілів із зниженим трансмембранним потенціалом мітохондрій, апоптозу з набору реагентів ANNEXIN V FITC (“Beckman Coulter”, США).

Результати досліджень та їх обговорення. Проведене дослідження показало істотний вплив мітохондріально-опосередкованого шляху апоптозу в патогенезі гострого ушкодження легень, яке відтворювалось шляхом інтратрахеального введення гідрохлоридної кислоти. При цьому в першу добу експерименту більше інформаційне значення мають зміни у бронхоальвеолярному змиві, ніж у крові.

Висновки. Сигнальним шляхом реалізації апоптозу за умови гострого ушкодження легень у щурів є мітохондріальний (позитивний взаємозв'язок між зниженням трансмембранного потенціалу мітохондрій ($r=0,61$; $p<0,01$) та накопиченням активних форм кисню ($r=0,64$; $p<0,01$), та збільшенням анексинпозитивних нейтрофілів через 2 год), що веде до необоротних змін у клітині.

Ключові слова: гостре ушкодження легень; мітохондрії, апоптоз.

ВСТУП На даний час доведено, що гостре ушкодження легень (ГУЛ) належить до тяжких патологічних процесів, що характеризуються значною поширеністю і високою летальністю, та є актуальною проблемою в практиці хірургічного, травматологічного, терапевтичного, акушерського профілів. Незважаючи на те, що обговоренню даної проблеми приділяється велика увага, багато питань на сьогодні залишаються ще не вирішеними [14]. Хоча є значний прогрес у визначенні факторів ризику та патогенезу розвитку ГУЛ, проте єдиної точки зору не існує. Незалежно від етіологічних чинників, в основі ГУЛ лежать спільні патогенетичні механізми: неспецифічна запальна реакція на дію патогенних факторів, секвестрація нейтрофілів у легень та пошкодження судинної стінки, активація цитокінової системи, “кисневий спалах”, зниження продукції та активності сурфактанту тощо [14, 18, 20]. Проте для розуміння механізмів ушкодження легень у цілому необхідно встановити взаємовідношення між кількістю медіаторів та їх локалізацією в різних середовищах організму, оскільки локалізація є важливим патогенетично значущим показником. Велика увага приділяється пошуку нових маркерів ГУЛ, які розкривають патогенетичну суть його, оскільки рутинні критерії недостатньо розкривають механізми розвитку і прогресування досліджуваної патології.

Розглядаючи механізми реалізації апоптозу клітини, важливе місце приділяється мітохондріям, що утворюють складну систему, являючись як мішенями, так і продуцентами активних форм кисню (АФК) [9, 21]. Дослідження, проведені в останні роки, показали чіткі докази центральної ролі мітохондрій в інтеграції більшості внутрішньоклітинних сигнальних шляхів, що ведуть клітину до загибелі. Окрім відомої енергетичної функції, яку раніше вважали основною для цих органел, мітохондрії не тільки приймають та координують проапоптозні сигнали, але і самі виробляють їх [1]. Мітохондрії здатні модулювати танатогенну програму шляхом зміни продукції окисних еквівалентів у вигляді АФК [9, 14]. Встановлено, що в організмі постійно утворюється невелика кількість супероксид-аніону та пероксиду водню в електронно-тран-

спортному ланцюзі мітохондрій [1]. Зміни трансмембранного потенціалу мітохондрій та вивільнення з міжмембранного простору мітохондрій проапоптозних факторів (зокрема цитохрому с) знижує електрохімічний градієнт протонів, що створюється на внутрішній мембрані мітохондрій ланцюгом переносу електронів, що викликає в клітинах, з одного боку, зменшення швидкості утворення АТФ – так званий “енергетичний голод”, а з іншого, посилюють перехід електронів на кисень, тим самим підвищуючи кількість внутрішньоклітинних АФК [1, 10]. Ініціація внутрішнього шляху апоптозу у взаємодії із зовнішнім, пов'язаним із лігандзалежною активацією рецепторів смерті плазматичної мембрани, зумовлює той поріг, за яким загибель клітини є неминучою.

Метою дослідження було встановити роль мітохондрій в ініціації апоптозу клітин крові й бронхоальвеолярного змиву як одного з механізмів гострого ушкодження легень.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Дослідження проведено на 106 білих нелінійних щурах-самцях віком 6–8 місяців масою 200–220 г, яких утримували в одному приміщенні при постійній температурі 18–22 °С на стандартному режимі віварію. Усі експерименти виконано з дотриманням норм Конвенції Ради Європи про захист хребетних тварин, що використовуються для досліджень та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2001) і наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р. Комісія з питань біоетики ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України” порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявили.

На першому етапі досліджень відібрано щурів з урахуванням їх індивідуальної резистентності до гіпоксії, яку проводили за методикою В. Я. Березовського (1978). Для подальших досліджень використовували середньостійких до гіпоксії щурів із часом виживання (280 ± 40) с.

Для відтворення ГУЛ використано модель G. Matute-Bello (2008) в авторській модифікації: за 20 хв до початку операції внутрішньочеревно вводили тіопентал натрію

(40 мг/кг), проводили цервікотомію довжиною до 1,0–1,5 см для візуалізації трахеї. Тварин розміщували горизонтально під кутом 45°, знаходили трахею і вводили в неї HCl при рН 1,2 з розрахунку 1,0 мл/кг на вдиху [4, 15].

Залежно від термінів ГУЛ, усіх тварин поділили на експериментальні групи: перша – інтактні (контрольні) щури (n=10); друга – щури із ГУЛ через 2 год після введення HCl (n=24); третя – щури із ГУЛ через 6 год після введення HCl (n=24); четверта – щури із ГУЛ через 12 год після введення HCl (n=24); п'ята – щури із ГУЛ через 24 год після введення HCl (n=24).

Для дослідження брали плазму крові й бронхоальвеолярний змив (БАЗ).

Для дослідження шляхів ініціації апоптозу встановлювали кількість нейтрофільних гранулоцитів (НГ) у камері Горяєва (1987), рівень АФК за допомогою дихлорфлюоресцеїну дیاцетат ("Sigma Aldrich", USA), який є барвником із заблокованою флюоресценцією, кількість нейтрофілів із зниженим трансмембральним потенціалом мітохондрій ($\Delta\psi$) за допомогою набору "MitoScreen" ("BD Pharmingen", США) у крові й БАЗ на проточному цитометрі. Для оцінки індукованої загибелі нейтрофілів легень, БАЗ та крові використовували FITC-мічений анексин V та пропідію йодид (PI) з набору реагентів ANNEXIN V FITC ("Beckman Coulter", США). При цьому НГ, позитивні по PI й анексину V, вказували на пізню стадію апоптозу і/або некроз, а НГ, позитивні по анексину V і негативні по PI, – на ранню стадію апоптозу [7, 8, 19].

Статистичну обробку цифрових даних здійснювали за допомогою програмного забезпечення "Excel" ("Microsoft", США) та STATISTICA 6.0 ("Statsoft", США). Статистичну обробку даних проводили з урахуванням перевірки показників на нормальний розподіл за тестом Колмогорова – Смірнова. Аналіз кореляційних зв'язків отриманих параметричних даних (коефіцієнт кореляції та похибку коефіцієнта кореляції) проводили з використанням статистики Спірмена. Критичний рівень значимості при перевірці статистичних гіпотез приймали рівним 0,05.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Згідно з експериментальними дослідженнями останніх років, порушення регуляції апоптозу лейкоцитарних клітин, у тому числі й нейтрофілів, може відігравати ключову роль у розвитку і прогресуванні легневих захворювань [12]. Результати наших попередніх досліджень вказують на підвищення активних форм кисню, зниження транс-

мембранного потенціалу та зростання відсотка клітин з явищами апоптозу в динаміці ГУЛ [5, 6]. Проведений кореляційний аналіз показав, що рівень раннього апоптозу нейтрофілів крові у щурів із ГУЛ помірно корелював зі зниженим $\Delta\psi$ у п'ятій дослідній групі та з рівнем АФК нейтрофілів у четвертій та п'ятій групах. Зафіксовано також позитивний кореляційний зв'язок середньої сили між кількістю нейтрофілів зі зниженим $\Delta\psi$ та відсотком АФК нейтрофілів у четвертій та сильний позитивний кореляційний зв'язок у п'ятій дослідних групах (табл. 1).

Провівши порівняльний аналіз кореляційних зв'язків між показником раннього апоптозу, трансмембральним потенціалом мітохондрій та рівнем АФК нейтрофілів у бронхоальвеолярному змиві встановлено, що при ГУЛ, яке індуковане інтратрахеальним введенням гідрохлоридної кислоти, вже у першу фазу ГУЛ (перші 2 год експерименту) був достовірний позитивний кореляційний зв'язок середньої сили між досліджуваними показниками, що залишався незмінним і в третій дослідній групі. Через 12 год дослідів сила зв'язку наростала і в п'ятій групі набувала максимальних значень (табл. 2).

Наше дослідження показало, що при ГУЛ, індукованому інтратрахеальним введенням гідрохлоридної кислоти, в міру збільшення рівня АФК у нейтрофілах зростала і кількість анексинпозитивних нейтрофілів у БАЗ, що свідчило про достовірну залежність цих двох процесів у легенях.

Зниження трансмембранного потенціалу мітохондрій, зазвичай, розглядається як одне з провідних проявів апоптозу. Причому найімовірніше, що фрагментація ДНК відбувається саме в клітинах зі зниженим $\Delta\psi$. Відомо, що вільні радикали відіграють важливу роль в транспорті електронів у дихальному ланцюзі, індукції утворення пор у мітохондріальній мембрані, окисному фосфорилуванні. У дослідженні виявлено вірогідний прямий взаємозв'язок між рівнем АФК та кількістю нейтрофілів зі зниженим $\Delta\psi$ у всіх групах спостереження ($p < 0,05-0,001$) в БАЗ та у четвертій і п'ятій групах у крові при експериментальному ГУЛ, що вказує на важливу однонаправлену дію кисневих радикалів та $\Delta\psi$ в апоптичних змінах клітин. Кореляційний аналіз показав, що при ГУЛ у міру збільшення кількості нейтрофілів зі зниженим $\Delta\psi$ зростала і кількість анексинпозитивних нейтрофілів у БАЗ, що свідчило про достовірну залежність цих двох процесів у легенях. Зростання кількості

Таблиця 1. Кореляційні зв'язки між показником раннього апоптозу, трансмембральним потенціалом мітохондрій та рівнем АФК нейтрофілів у крові при гострому ушкодженні легень

| Кореляційний зв'язок | | Дослідна група | Коефіцієнт кореляції, r_{xy} | Похибка коефіцієнта кореляції, m_{xy} |
|--|--|----------------|--------------------------------|---|
| Кількість нейтрофілів зі зниженим $\Delta\psi$, % | Кількість анексинпозитивних нейтрофілів, % | 2 | 0,27 | 0,21 |
| | | 3 | 0,44 | 0,19 |
| | | 4 | 0,51 | 0,18 |
| | | 5 | 0,61* | 0,17 |
| Рівень активних форм кисню у нейтрофілах, % | Кількість анексинпозитивних нейтрофілів, % | 2 | 0,51 | 0,18 |
| | | 3 | 0,52 | 0,18 |
| | | 4 | 0,69* | 0,15 |
| Рівень активних форм кисню у нейтрофілах, % | Кількість нейтрофілів зі зниженим $\Delta\psi$, % | 5 | 0,65* | 0,16 |
| | | 2 | 0,48 | 0,19 |
| | | 3 | 0,15 | 0,21 |
| | | 4 | 0,58* | 0,17 |
| | | 5 | 0,90* | 0,09 |

Примітка. * – кореляційний зв'язок статистично значимий.

Таблиця 2. Кореляційні зв'язки між показником раннього апоптозу, трансмембранним потенціалом мітохондрій та рівнем АФК нейтрофілів у бронхоальвеолярному змиві при гострому ушкодженні легень

| Кореляційний зв'язок | | Дослідна група | Коефіцієнт кореляції, r_{xy} | Похибка коефіцієнта кореляції, m_{xy} |
|--|--|----------------|--------------------------------|---|
| Кількість нейтрофілів зі зниженим $\Delta\psi$, % | Кількість анексин-позитивних нейтрофілів, % | 2 | 0,61* | 0,17 |
| | | 3 | 0,68* | 0,15 |
| | | 4 | 0,81* | 0,13 |
| | | 5 | 0,81* | 0,13 |
| Рівень активних форм кисню у нейтрофілах, % | Кількість анексин-позитивних нейтрофілів, % | 2 | 0,64* | 0,16 |
| | | 3 | 0,78* | 0,13 |
| | | 4 | 0,92* | 0,08 |
| | | 5 | 0,91* | 0,08 |
| Рівень активних форм кисню у нейтрофілах, % | Кількість нейтрофілів зі зниженим $\Delta\psi$, % | 2 | 0,58* | 0,17 |
| | | 3 | 0,69* | 0,15 |
| | | 4 | 0,75* | 0,14 |
| | | 5 | 0,90* | 0,09 |

Примітка. * – кореляційний зв'язок статистично значимий.

апоптично змінених нейтрофілів виявлено також і при хронічних обструктивних захворюваннях легень [17].

Аналізуючи отримані результати, можна стверджувати, що при ГУЛ, індукованому інтратрахеальним введенням гідрохлоридної кислоти, відбувається неспецифічна активація кисневозалежного метаболізму нейтрофілів, змінюється їх редокс-стан унаслідок підвищення утворення вільних радикалів нейтрофілами (так званий респіраторний вибух). Активні форми кисню викликають не тільки ушкодження тканин, але і самі по собі можуть спричиняти агрегацію лейкоцитів, продукти агресії яких (протеази, кисневі радикали, цитокіни) ушкоджують ендотеліальні клітини [2].

Важливим результатом нашого дослідження є встановлення різних змін при ГУЛ у крові й БАЗ, що зумовлене, мабуть, особливостями патогенетичних механізмів при даному захворюванні. Однією з причин такої різниці може бути характерна для ГУЛ міграція нейтрофілів у дихальні шляхи та активація місцевих факторів захисту, до яких відноситься й апоптоз, основною ме-

тою якого було зменшити кількість клітин імунної системи, що беруть участь у запальному процесі [3]. Згодом даний патогенетичний механізм набув генералізованого характеру і через 24 год експерименту (п'ята дослідна група) спостерігався прямий кореляційний зв'язок між досліджуваними маркерами апоптозу в крові. На нашу думку, проведене дослідження дозволяє стверджувати про те, що при ГУЛ, модельованому інтратрахеальним введенням гідрохлоридної кислоти, у першу добу експерименту більше інформаційне значення має БАЗ, аніж кров. По-друге, ми встановили істотний вплив мітохондріально-опосередкованого шляху апоптозу в патогенезі ГУЛ.

ВИСНОВКИ Сигнальним шляхом реалізації апоптозу за умови гострого ушкодження легень у щурів є мітохондріальний (позитивний взаємозв'язок між зниженням трансмембранного потенціалу мітохондрій ($r=0,61$; $p<0,01$) і накопиченням активних форм кисню ($r=0,64$; $p<0,01$) та збільшенням анексинпозитивних нейтрофілів через 2 год), що веде до необоротних змін у клітині.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Бра М. Митохондрии в запрограмованной гибели клетки: различные механизмы гибели / М. Бра, Б. Квиван, С. Сузин // Биохимия. – 2005. – Т. 70, вып. 2. – С. 284–293.
- Криницька І. Я. Встановлення кореляційних зв'язків між рівнем активних форм кисню, трансмембранним мітохондріальним потенціалом та апоптозом у крові та бронхоальвеолярному змиві щурів з модельованим гепатопульмональним синдромом / І. Я. Криницька // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2013. – Т. 17, № 1. – С. 24–27.
- Криницька І. Я. Рівень апоптично- та некротично змінених моноцитів та альвеолярних макрофагів за умови експериментального гепатопульмонального синдрому [Електронний ресурс] / І. Я. Криницька // Світ медицини та біології. – 2013. – № 2(38). – С. 46–49.
- НСІ-індукований гострий респіраторний дистрес-синдром / А. А. Гудима, М. І. Марущак Г. Г. Габор [та ін.] // Здобутки клін. та експерим. медицини. – 2010. – № 2. – С. 39–42.
- Марущак М. І. Роль активних форм кисню у розвитку і прогресуванні гострого ураження легень в експерименті / М. І. Марущак // Медична хімія. – 2012. – Т. 14, № 1 (50). – С. 104–108.
- Марущак М. І. Зміна трансмембранного потенціалу мітохондрій клітин крові та бронхоальвеолярного змиву при гострому ураженні легень в експерименті / М. І. Марущак // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2012. – № 2. – С. 16–21.
- Apoptosis of neutrophils / N. A. Maianski, A. N. Maianski, T. W. Kuijpers, D. Roos // Acta. Haematol. – 2004. – Vol. 111, № 1–2. – P. 56–66.
- Caveolin-1 Inhibits Expression of Antioxidant Enzymes through Direct Interaction with Nuclear Erythroid 2 p45-related Factor-2 (Nrf2) / W. Li, H. Liu, J. S. Zhou [et al.] // J. Biol. Chem. – 2012. – Vol. 287, № 25. – P. 20922–20930.
- Circu M. L. Intestinal redox biology and oxidative stress / M. L. Circu, T. Y. Aw // Semin. Cell. Dev. Biol. – 2012. Режим доступу: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22484611>
- Circu M. L. Reactive oxygen species, cellular redox systems, and apoptosis / M. L. Circu, T. Y. Aw // Free Radic. Biol. Med. – 2010. – Vol. 48, № 6. – P. 749–762.
- Free radical biology of the cardiovascular system / A. F. Chen, D. D. Chen, A. Daiber [et al.] // Clin. Sci. (Lond). – 2012. – Vol. 123, № 2. – P. 73–91.
- Gattinoni L. Assessing gas exchange in acute lung injury/acute respiratory distress syndrome: diagnostic techniques and prognostic relevance / L. Gattinoni, E. Carless, M. Cresson // Curr. Opin. Crit. Care. – 2011. – Vol. 17, № 1. – P. 18–23.

13. Harrison's Principles of Internal Medicine / J. Loscalzo, L. Longo Dan, A. S. Fauci [et al.]. – 18th ed. – McGraw-Hill Professional and Medical, 2011. – 4012 p.

14. Incidence and Outcomes of Acute Lung Injury / G. D. Rubenfeld, E. Caldwell, E. Peabody [et al.] // *New Engl. J. Med.* – 2005. – Vol. 353, № 5. – P. 1685–1693

15. Matute-Bello G. Animal models of acute lung injury / G. Matute-Bello, C. W. Frevert, T. R. Martin // *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* – 2008. – Vol. 295, № 3. – P. 379–399.

16. Mitochondrial redox signaling: interaction of mitochondrial reactive oxygen species with other sources of oxidative stress / E. Schulz, P. Wenzel, T. Münzel, A. Daiber // *Antioxid Redox Signal.* 2012. Режим доступу: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22657349>

17. Neutrophil apoptosis in the lung after hemorrhage or endotoxemia: apoptosis and migration are independent of IL-1 β / M. V. Parsey, D. Kaneko, R. Shenkar, E. Abraham // *Clin. Immunol.* – 1999. – Vol. 91, № 2. – P. 219–225.

18. Soubani A. M. O. Acute respiratory distress syndrome: a clinical update / A. M. O. Soubani, R. Pieroni // *South Med. J.* – 1999. – Vol. 92. – P. 450–457.

19. The mitochondrial network of human neutrophils: role in chemotaxis, phagocytosis, respiratory burst activation, and commitment to apoptosis / G. Fossati, D. A. Moulding, D. G. Spiller [et al.] // *J. Immunol.* – 2003. – Vol. 170, № 4. – P. 1964–1972.

20. Yang K. Y. Early alterations in neutrophil activation are associated with outcome in acute lung injury / K. Y. Yang, J. J. Arca-rol, E. Abraham // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2003. – Vol. 167, № 11. – P. 1567–1574.

21. Georgiev M. I. Antioxidant activity and bioactive constituents of the aerial parts of harpagophytum procumbens plants / M. I. Georgiev, K. I. Alipieva, P. Denev // *Biotechnology & Biotechnological Equipment.* – 2010. – Vol. 24, № 2. – P. 438–443.

Отримано 24.01.17

©M. I. Marushchak

I. Horbachevsky Ternopil State Medical University

MITOCHONDRIAL APOPTOSIS MECHANISMS IN EXPERIMENTAL ACUTE LUNG INJURY

Summary. Considering the implementation of apoptosis cells mechanisms, an important place is given to the mitochondria, which form a complex system, being both targets and producers of reactive oxygen species. In recent years studies showed clear evidence of the central role of mitochondria in the integration of most intracellular signaling pathways leading to cell death.

The aim of the study – to establish the role of mitochondria in apoptosis initiation as one of the mechanisms of acute lung injury.

Materials and Methods. The study was conducted on 106 white nonlinear mature male rats. It was investigated the ways of apoptosis initiating by the number of neutrophils, the level of ROS, percentage of neutrophils with decreased transmembrane potential of mitochondria, apoptosis using the reagents "ANNEXIN V FITC" ("Beckman Coulter", USA).

Results and Discussion. The study showed a significant effect of mitochondria-mediated pathway of apoptosis in the pathogenesis of acute lung injury, which was reproduced by intratracheal administration of the hydrochloride acid. In the first day of the experiment more informative and important changes in the bronchoalveolar lavage than in blood.

Conclusions. The signal way of apoptosis implementation in acute lung injury in rats is mitochondrial (positive correlation between the reduction of mitochondrial transmembrane potential ($r=0.61$; $p<0.01$) and the accumulation of reactive oxygen species ($r=0.64$; $p<0.01$) and increasing annexin-positive neutrophils through 2 hours), leading to irreversible changes in the cell.

Key words: acute lung injury; mitochondria; apoptosis.

©M. И. Марущак

ГВУЗ "Тернопольский государственный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского"

МИТОХОНДРИАЛЬНЫЕ МЕХАНИЗМЫ АПОПТОЗА ПРИ ОСТРОМ ПОВРЕЖДЕНИИ ЛЕГКИХ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Резюме. Рассматривая механизмы реализации апоптоза клетки, важное место отводится митохондриям, которые образуют сложную систему, являясь как мишенями, так и продуцентами активных форм кислорода. Исследования, проведенные в последние годы, показали четкие доказательства центральной роли митохондрий в интеграции большинства внутриклеточных сигнальных путей, ведущих клетку к гибели.

Цель исследования – установить роль митохондрий в инициации апоптоза как одного из механизмов острого повреждения легких (ОПЛ).

Материалы и методы. Исследования проведены на 106 половозрелых белых нелинейных крысах-самцах. Для исследования путей инициации апоптоза устанавливали количество нейтрофилов, уровень активных форм кислорода, количество нейтрофилов с пониженным трансмембральным потенциалом митохондрий, апоптоза из набора реагентов ANNEXIN V FITC ("Beckman Coulter", США).

Результаты исследований и их обсуждение. Проведенное исследование показало существенное влияние митохондриально-опосредованного пути апоптоза в патогенезе острого повреждения легких, которое воспроизводилось путем интратрахеального введения гидрохлоридной кислоты. При этом в первые сутки эксперимента большее информационное значение имеют изменения в бронхоальвеолярном смыве, чем в крови.

Выводы. Сигнальным путем реализации апоптоза при остром повреждении легких у крыс есть митохондриальный (положительная взаимосвязь между снижением трансмембранного потенциала митохондрий ($r=0,61$; $p<0,01$) и накоплением активных форм кислорода ($r=0,64$; $p<0,01$), и увеличением анексинположительных нейтрофилов через 2 ч), что ведет к необратимым изменениям в клетке.

Ключевые слова: острое повреждение легких; митохондрии; апоптоз.