

Ирина Юрьевна Еремина

Красноярский государственный аграрный университет, доцент кафедры разведения, генетики, биологии и водных биоресурсов, кандидат биологических наук, доцент, Красноярск, Россия

E-mail: irin-eremina@yandex.ru

Галина Владимировна Макарская

Институт вычислительного моделирования – обособленное подразделение ФИЦ КНЦ СО РАН, старший научный сотрудник отдела технологий мониторинга природной среды, кандидат биологических наук, Россия, Красноярск

E-mail: mgv@icm.krasn.ru

**АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ ЭНДОГЕННЫХ И ЭКЗОГЕННЫХ ФАКТОРОВ
НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК КРОВИ У БЫКОВ**

*Цель исследования: изучение зависимости функциональной активности (ФА) антигенактивированных *in vitro* клеток крови быков от эндогенных и экзогенных факторов. Выявлены значимые факторы, влияющие на генерацию активных форм кислорода (АФК) клетками крови; установлены параметры влияния этих факторов. Исследована кровь клинически здоровых быков-спермодоноров АО «Красноярскгосплем» разного возраста в различные сезонные периоды. ФА клеток оценивали по кинетике генерации АФК, регистрируемой микрометодом люминолуциферной хемилюминесценции с использованием аппаратно-программного комплекса Хемилюциметр 3604 ПЭВМ (СКТБ «Наука» СО РАН). Установлено, что ФА клеток крови быков-производителей имеет двухфазную кинетику и характеризуется закономерной возрастной динамикой и сезонной зависимостью. Время достижения первого и второго максимумов хемилюминесцентной кривой кинетики генерации АФК у клинически здоровых быков постоянно. Соотношение величин амплитуд максимумов кинетики генерации АФК зависит от сезона, при этом параметры первого максимума (I_{max1}) изменяются незначительно. Наименьшее значение I_{max1} зафиксировано у быков в возрасте 49–60 месяцев (726 ± 73 имп/с) в весенний период и наибольшее в возрасте 26–36 мес. (1795 ± 208 имп/с) в осенний период. Выявлены колебания величин второго максимума (I_{max2}) от (1133 ± 115 имп/с) в возрастной группе 19–24 мес. осенью до (3887 ± 525 имп/с) в группах старше 61 мес. весной с общей тенденцией снижения величины обоих пиков в возрасте 37–48 мес. Объем (S) генерируемых АФК к 5–6-летнему возрасту увеличивается, зависит от сезона (выше зимой). При компонентном анализе кинетики генерации АФК клетками крови, отражающем участие клеточных и ферментных структур по параметрам модельной интегральной хемилюминесцентной кривой (по Magrisso M. Y. et al., 2000), оценены основные функциональные состояния клеток: весна – состояние «отдыха»; осень и зима – состояние «альтернативной активации». Увеличение интегрального объема продукции всех видов АФК определяется ростом максимальной интенсивности и объема третьей компоненты генерации свободных радикалов кислорода, не связанной с процессом фагоцитоза.*

Ключевые слова: хемилюминесценция, активные формы кислорода, крупный рогатый скот, селекция, функциональная активность.

Irina Yu. Eremina

Krasnoyarsk State Agrarian University, associate professor, Department of Breeding, Genetics, Biology and Aquatic Bioresources, candidate of biological sciences, associate professor, Krasnoyarsk, Russia

E-mail: irin-eremina@yandex.ru

Galina V. Makarskaya

Institute of Computational Modeling - a separate division of FRC KRC SB RAS, senior researcher at the Department of Environmental Monitoring Technologies, candidate of biological sciences, Russia, Krasnoyarsk
E-mail: mgv@icm.krasn.ru

ENDOGENOUS AND EXOGENOUS FACTORS' INFLUENCE ANALYSIS ON BLOOD CELLS FUNCTIONAL ACTIVITY IN BULLS

Research objective is to study the dependence of the functional activity (FA) of antigen-activated in vitro blood cells of bulls on endogenous and exogenous factors. The study revealed significant factors influencing the generation of reactive oxygen species (ROS) by blood cells; established the parameters of these factors' influence. The blood of clinically healthy sperm donor bulls of JSC "Krasnoyarskgosplem" of different ages in different seasonal periods was studied. FA of cells was assessed by the kinetics of ROS generation, recorded by the micro-method of luminol-enhanced chemiluminescence using the hardware-software complex Chemiluminometer 3604-PC (SKTB Nauka SB RAS). It was found that FA of blood cells of bulls-producers has two-phase kinetics and is characterized by regular age-related dynamics and seasonal dependence. The time to reach the first and second maxima of the chemiluminescence curve of the kinetics of ROS generation in clinically healthy bulls is constant. The ratio of the amplitudes of the maxima of the kinetics of ROS generation depends on the season, while the parameters of the first maximum (I_{max1}) change insignificantly. The smallest I_{max1} value was recorded in bulls aged 49–60 months (726 ± 73 counts/s) in the spring and the highest at the age of 26–36 months. (1795 ± 208 counts/s) in the autumn. The fluctuations in the values of the second maximum (I_{max2}) from (1133 ± 115 counts/s) were revealed in the age group of 19–24 months in autumn up to (3887 ± 525 imp / s) in groups older than 61 months in spring, with a general tendency to decrease the value of both peaks at the age of 37–48 months. The volume (S) of generated ROS increases by the age of 5–6 years, depending on the season (higher in winter). In the component analysis of the kinetics of ROS generation by blood cells, reflecting the participation of cellular and enzyme structures according to the parameters of the model integral chemiluminescence curve (according to Magrisso M.Y. et al., 2000), the main functional states of cells were assessed: spring – the state of "rest"; autumn and winter – the state of "alternative activation". An increase in the integral volume of production of all types of ROS is determined by an increase in the maximum intensity and volume of the third component of the generation of free oxygen radicals, which is not associated with the process of phagocytosis.

Keywords: chemiluminescence, reactive oxygen species, cattle, selection, functional activity.

Введение. Эффективное управление реализацией генофонда высокопродуктивных сельскохозяйственных животных возможно лишь на основании научно обоснованных данных, полученных с помощью разноуровневых индикаторов. Проявление высокой продуктивности сельскохозяйственных животных обеспечивается интенсивным функционированием всех органов и систем организма, стабильность и устойчивость работы которых зависит от множества факторов эндогенной и экзогенной природы. Отклонение последних от оптимальных пределов приводит к сбою гомеостатического режима работы данного организма с потерей не только продуктивности и здоровья, но и даже его жизнеспособности [1, 2]. В связи с этим выявление

первичных критических моментов изменения состояния организма является актуальной задачей, решение которой позволяет на ранних стадиях классифицировать неблагоприятное влияние и принять меры к устранению воздействия. Одной из главнейших связующих систем целостного организма является периферическая кровь. Она не только обеспечивает нормальное функционирование организма, но и является активно действующей составной частью системы неспецифической резистентности и специфического иммунитета. Исследование цитоморфологического состава и биохимических характеристик периферической крови имеет большое диагностическое значение [1, 2]. Особую роль в обеспечении неспецифической

резистентности, как первичной защитной реакции на экзогенные и эндогенные раздражители, играют клетки крови, способные к фагоцитозу [3]. Проявление функциональной активности фагоцитов на всех этапах фагоцитарного процесса сопровождается продукцией активных форм кислорода (АФК), слабо выраженной в состоянии нормы и протекающей в виде респираторного взрыва в состоянии антигенной активации [3]. В зависимости от объема генерируемые АФК способны повреждать не только чужеродные агенты, но и собственные молекулярные структуры. В норме регуляция продукции АФК и свободных радикалов в тканях и органах осуществляется многоуровневой физиологической антиоксидантной системой, которая включает в себя соединения различной химической природы: витамины, пигменты, гормоны, ферменты [4]. Важной составляющей, описывающей состояние гомеостаза, является оптимальный баланс окислительно-восстановительных реакций: равновесие между процессами образования АФК и реакциями антиоксидантной системы. Разные комбинации экзо- и эндогенных факторов могут привести к сдвигу равновесия оксиданты – антиоксиданты, что неблагоприятно воздействует на организм.

В связи с этим, осуществляя мониторинг функциональной активности иммунокомпетентных клеток крови (ИКК), выполняемый на молекулярном уровне по кинетике генерации АФК клетками периферической крови с помощью хемилюминесцентного (ХЛ) метода, можно выявить тонкие изменения в механизмах функционирования системы иммуногенеза, не всегда проявляющиеся на субклеточном и клеточном уровнях, но вместе с тем играющие ключевую роль в формировании патогенетических механизмов. Интенсивность хемилюминесценции коррелирует с потреблением клетками кислорода и степенью завершенности фагоцитоза, поэтому имеет смысл оценить интегральную составляющую, отражающую резервные возможности антиоксидантного потенциала. ХЛ-кривая кинетики генерации АФК ИКК является одним из интегральных показателей состояния системы иммуногенеза, и ее регистрация может служить одним из экспресс-методов ранней диагностики иммунодефицитных состояний [5–8].

Цель исследований. Изучить зависимость функциональной активности антигенактивированных *in vitro* клеток крови быков от эндогенных и экзогенных факторов.

Задачи: выявление значимых факторов, влияющих на генерацию АФК клетками крови; установление параметров влияния этих факторов.

Материалы и методы исследований. В качестве объекта использована периферическая кровь клинически здоровых быков–спермодоноров ОАО «Красноярскгосплем», отбираемая в период ежегодных плановых весенне-осенних и внеплановых зимних ветеринарных обследований 1999–2014 г. Функциональную активность клеток крови при антигенной стимуляции *in vitro* оценивали по кинетике генерации АФК, регистрируемой микрометодом люминолуцилентной хемилюминесценции с использованием аппаратно-программного комплекса «Хемилюминометр CL-3604» – ПЭВМ (СКТБ «Наука» СО РАН) [9, 10]. Время записи хемилюминесцентной кривой составляло 180 минут при температуре в регистрационной камере 37 °С. Реакционная смесь регистрационной кюветы состояла из 200 мкл $2,2 \cdot 10^{-4}$ М люминола (Sigma) в растворе Хенкса (рН – 7,2), 100 мкл гепаринизированной крови животных в разведении 1:1 в растворе Хенкса, 50 мкл суспензии монодисперсных частиц латекса (ВНИИСК, С-Петербург) в растворе Хенкса концентрацией $5 \cdot 10^8$ част/мл, опсонизированных белками пуловой сыворотки крови крупного рогатого скота.

О кинетике генерации АФК в системе клеток цельной крови быков судили по параметрам хемилюминесцентной кривой, принимая во внимание наиболее информативные: амплитуду максимальной активности хемилюминесцентной реакции (I_{\max} – имп/с), время достижения максимума (T_{\max} – мин) и площадь под кривой хемилюминесценции (S – имп. за 180 мин), определяющей общее количество АФК, генерируемых клетками за время записи хемилюминесцентной кривой. Анализ хемилюминесцентной кинетики генерации АФК и оценку функционального состояния клеток крови выполняли по методу M.Y. Magrisso et al. [9]. Статистическую обработку данных и дисперсионный двухфакторный

анализ осуществляли по алгоритмам пакета «анализ данных» программы Microsoft Excel.

Результаты и их обсуждение. При использовании разведения образцов крови регистрируемая хемилюминесцентная кинетика генерации АФК клетками при антигенной активации *in vitro* характеризовалась двумя максимумами (рис.1) [10]. Формирование первого из них отражает активацию фагоцитарного процесса (адгезия, поглощение частиц латекса). Второй пик генерации АФК обусловлен эндогенной активацией «резервных» нейтрофилов [11], а также образованием липидных и белковых пероксидов [5, 6].

Многолетние исследования функциональной активности клеток крови здоровых быков-спермодоноров ОАО «Красноярскгосплем» выявили возрастную и сезонную динамику способности клеток крови генерировать АФК в ответ на антигенную стимуляцию *in vitro* [11, 12], которая проявляется прежде всего в изменении соотно-

шения амплитуды первого и второго максимума интенсивности хемилюминесценции (рис. 1). Амплитуда первого максимума (I_{max1}) с возрастом изменяется незначительно, но проявляется тенденция снижения, начиная с двухлетнего возраста, наиболее заметно проявляющаяся в весенний период (рис. 2). Наименьшие значения (726 ± 73 имп/с) выявлены у быков в возрасте старше 4–5 лет в весенний период, в то время как размах величин второго максимума (I_{max2}) составлял от 1447 ± 87 имп/с в группе 37–48 мес. до 3887 ± 525 имп/с в группе старше 61–72 мес. в весенний период и от 1133 ± 115 (возраст 19–24 мес.) до 3227 ± 931 (возраст 61–72 мес.) при общей тенденции снижения величины первого и повышения второго максимума в возрасте старше 36 мес.

Время достижения первого и второго максимума также является важной характеристикой продукции АФК (табл. 1).

Таблица 1

Значение параметров времени достижения первого (T_{maxI}) и второго (T_{maxII}) максимумов ХЛ кинетики генерации клетками крови быков разновозрастных групп в разные сезонные периоды

Возраст, месяц	$T_{max(I)}$, мин						$T_{max(II)}$, мин					
	Осень	n	Зима	n	Весна	n	Осень	n	Зима	n	Весна	n
До 18	18±2	64	15±1	20	19±4	35	133±2	64	130±3	20	123±6*	35
19–24	18±1	76	–	–	19±2	36	123±3	76	–	–	122±3	36
25–36	17±1	126	14±1	9	21±2	93	121±2	126	118±6	9	122±3	93
37–48	18±2	49	18±1	8	22±2	68	124±3	49	120±6	8	133±3*	68
49–60	19±2	64	13±8	12	20±3	43	123±3	64	116±7	12	131±6*	43
61–72	17±8	17	8±35	2	13±5	30	124±7	17	169±23	2	125±9	30
Старше 73	16±6	12	11±2	2	19±5	13	131±8	12	165±3	2	132±8	13

* Достоверные отличия от значений осенью ($P < 0,05$).

Следует отметить, что оно имеет четкие периоды проявления, связанные, вероятнее всего, с видовой особенностью. Первый максимум достигается на 18 ± 1 минуте осенью, 17 ± 1 минуте зимой, на 19 ± 1 – весной. Второй максимум на 127 ± 2 мин весной, 127 ± 3 – зимой и 126 ± 2 – осенью. Однако есть достоверные отличия этих параметров для одновозрастных групп в различные сезонные периоды (см. табл. 1).

Регистрируемая хемилюминесцентная кинетика генерации АФК клетками крови при антигенной активации *in vitro* представляет собой

интегральную характеристику продукции АФК во вне- и внутриклеточную среду при участии клеточных про- и антиоксидантных ферментативных структур, активирующихся в процессе фагоцитоза, и про- и антиоксидантных факторов, функционирование которых напрямую не связано с фагоцитозом (супероксиддисмутаза (СОД) эритроцитов, металлы с переменной валентностью, витамины и др.). Согласно методу анализа ХЛ кинетики по M.Y. Magrisso et al. [9], каждая хемилюминесцентная кинетическая кривая может быть представлена как сумма трех стати-

стических распределений-компонент (рис. 2). Первая компонента представляет процессы, связанные с фагоцитозом и происходящие около плазматической мембраны, отражает кинетику внеклеточной генерации АФК при распознавании и адгезии. Вторая компонента характери-

зует процессы внутри клетки, связанные с фагоцитозом, и представляет внутриклеточную генерацию АФК. Третья компонента описывает кинетику генерации внутриклеточных АФК, напрямую не связанной с фагоцитозом [9].

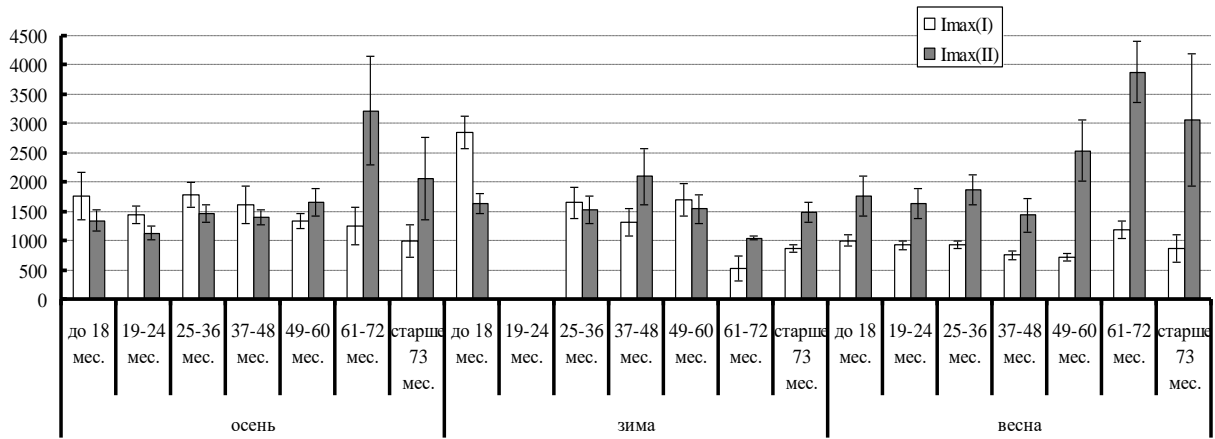


Рис. 1. Возрастная динамика амплитуды максимумов (I_{max1} и I_{max2}), кинетики продукции АФК антигенактивированными *in vitro* клетками быков-производителей в весенний и осенний периоды (1999–2014 гг.).

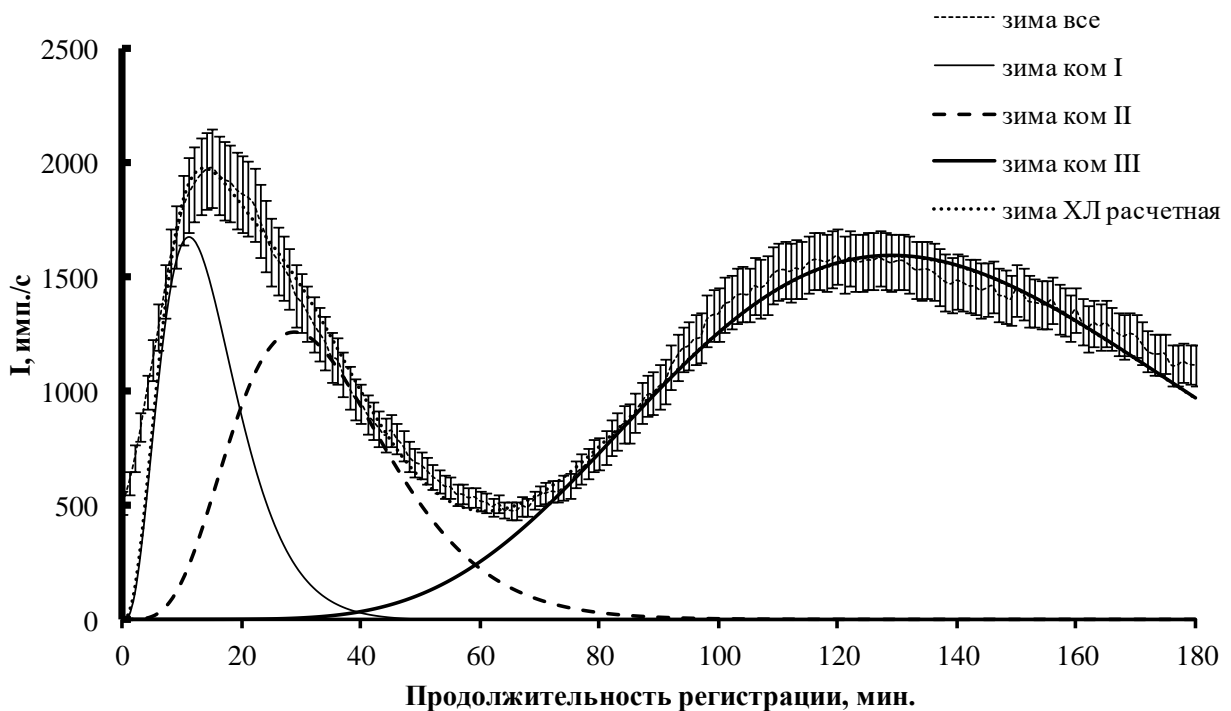


Рис. 2. Компонентная структура люминоусиленной хемилюминесцентной кинетики генерации АФК клетками крови быков-спермодоноров разного возраста в зимний период

Компонентный анализ кинетики генерации АФК клетками крови разновозрастных групп быков, по M.Y. Magrisso et al. [9], показал, что изменение с возрастом интегрального объема S генерации люминолзависимых АФК с общей тенденцией увеличения к 6–7 годам определяется изменением третьей компоненты, характеризующей фагоцитознезависимую генерацию АФК (см. рис. 2). В старшем возрасте (73 мес. и старше) отмечено снижение показателя на 21,8 % от максимального значения в предыдущий период.

При этом изменение ХЛ показателей соотносится с изменением гомеостаза и продуктивности спермодоноров. Так, Е.В. Четвертакова (2016) указывает, что «...быки в возрасте до двух лет характеризуются нестабильными половыми функциями, в результате чего от них было получено минимальное количество семени» [13]. По результатам компонентного анализа этот период (до 18 месяцев) характеризуется самой высокой величиной S первой и второй компоненты (табл. 2) при сравнительно низких показателях S третьей компоненты, что определяется высокой активностью про- (НАДФН-оксидазы, миелопероксидазы) и антиоксидантных ферментов (СОД, каталазы), участвующих в формировании респираторного взрыва при фагоцитозе [3, 5]. И в то же время достаточно высока активность антиоксидантных ферментов глутатионового ряда (глутатионпероксидазы, глутатионтрансферазы, глутатионредуктазы), роль которых весьма значима в окончательной дисмутации образующихся свободных кислородных, липидных и белковых радикалов [6].

То есть период до 1,5 лет, наряду с пониженными биотехнологическими показателями спермопродукции, характеризуется сравнительно высокой активностью внутриклеточных и про- и антиоксидантных систем.

Исследованиями возрастного изменения баланса активности про- и антиоксидантных ферментов в нейтрофилах [14] выявлена наиболее высокая активность про- и антиоксидантных ферментов в молодом возрасте организма с закономерным снижением активности всех ти-

пов антиоксидантных ферментов, причем более интенсивным для каталазы, и увеличением перикисного окисления липидов и белковых молекул. Очевидно, следствие этого процесса регистрируется в наших исследованиях возрастного изменения хемилюминесцентной кинетики генерации АФК: снижение активности нарастания респираторного взрыва при активации фагоцитоза и его медленное гашение.

Значение максимальной интенсивности фагоцитозсвязанной продукции АФК у особей не старше 4 лет в осенний период несколько выше, чем величина второго максимума, в весенний же период средние величины первого максимума достоверно ($P < 0,05$) меньше средних величин второго максимума, к тому же в периферической крови крупного рогатого скота количественно доминирует фракция лимфоцитарных клеток (60–70 % лейкоцитов), не участвующих в фагоцитозе. Рассматривая покомпонентно характеристику времени достижения максимума, выявили устойчивые периоды достижения максимума вне зависимости от сезона по 1-й и 2-й компоненте, 8-я и 23–25-я минута соответственно. Третья компонента достигает своего максимума быстрее зимой (117 ± 2 мин), а осенью и весной позднее соответственно на 126 ± 1 и 130 ± 2 мин.

Используя значения показателей модельных составляющих, выполнили оценку функционального состояния фагоцитирующих клеток крови КРС разного возраста. У быков разного возраста функциональное состояние клеток крови, генерирующих АФК при инициации фагоцитоза, по методу Magrisso et al. [10] характеризуется в основном как «альтернативно активированное» в осенний и зимний периоды и «отдыха» в весенний (см. табл. 2).

Таким образом, объем АФК, связанных с фагоцитозом, у клинически здоровых быков-спермодоноров зависит от сезона. При этом доля общей продукции АФК, связанной с фагоцитозом, составляет не более 41 % в зимний период. Минимальная доля фагоцитозсвязанной продукции АФК регистрировалась в весенний период – 12 %, что достоверно ($P < 0,05$) меньше, чем в осенний и зимний период.

Сезонно-возрастные особенности функционального состояния лейкоцитарных клеток крови быков-спермодоноров при активации фагоцитоза *in vitro*

Возраст, месяц	Весна		Осень		Зима	
	Тип активности клеток крови	Доля (%) фагоцитоз-связанной продукции АФК	Тип активности клеток крови	Доля (%) фагоцитоз-связанной продукции АФК	Тип активности клеток крови	Доля (%) фагоцитоз-связанной продукции АФК
Все	1	16,9	2	29,8	2	32,4
До 18	1	21,2	1	36,0	2	41,1
19–24	1	22,8	2	33,6	-	-
25–36	1	18,8	2	31,6	1	28,5
37–48	1	20,7	2	31,6	2	20,5
49–60	1	12,7	2	26,3	2	31,0
61–72	1	12,3	2	12,8	1	19,6
Старше 73	1	12,3	2	16,0	1	21,0

Примечание: 1 – состояние «отдыха» при слабой презентации антигена, нет готовности к активному бактерицидному действию; 2 – состояние «альтернативной активации», клетки активно генерируют АФК при фагоцитозе, но большее количество АФК генерируется вне фагоцитоза.

Для анализа значимости влияния из группы факторов, воздействующих на процессы образования АФК клетками крови, выбраны два независимых – «возраст животного» и «сезон» (табл. 3).

Таблица 3

Дисперсионный анализ влияния факторов «сезон» и «возраст животного» на интегральный объем генерации АФК клетками крови быков-спермодоноров (S, имп. за 180 мин)

Источник вариации	SS	df	MS	F	P-значение	F _{критич.}
Сезон	1,416·10 ¹⁵	3	4,722·10 ¹⁴	2,777	0,04480	2,689
Возраст	5,885·10 ¹⁵	2	2,943·10 ¹⁵	17,305	0,00000003	3,080
Взаимодействие факторов	4,134·10 ¹⁵	6	6,890·10 ¹⁴	4,052	0,00106	2,184
Внутри	1,836·10 ¹⁶	108	1,700·10 ¹⁴	–	–	–
Итого	2,980·10 ¹⁶	119	–	–	–	–

Примечание. Источники вариации: «внутри» – случайная; «итого» – общая.

Взаимодействие факторов в данном случае означает, что интегральный объем генерации АФК в различные сезоны зависит от возраста животного.

Поскольку по фактору «сезон» критерий Фишера $F = 2,77 > F_{критич} = 2,689$, а р-значение равно 0,0448 и меньше уровня значимости, гипотеза H_0 отклоняется. Следовательно, можно утверждать, что между интегральным объемом

генерации АФК в разные сезоны существует разница. По фактору «возраст» $F = 17,305 > F_{критич} = 3,080$, а р-значение равно $0,3 \cdot 10^{-7}$ и меньше уровня значимости, гипотеза H_0 отклоняется. Следовательно, значение площади свечения S, характеризующего объем генерации АФК за время регистрации, статистически значимо ($p < 0,001$) зависит от возраста животного.

Выводы. Функциональная активность клеток крови быков-производителей, оцениваемая по способности генерировать АФК при антигенной активации *in vitro*, имеет двухфазную кинетику и характеризуется закономерной возрастной динамикой и сезонной зависимостью. Кинетика генерации АФК характеризуется стабильными параметрами времени достижения максимумов и изменяющимися в зависимости от возраста и сезона максимальной интенсивностью первого ($I_{\max 1}$) и второго ($I_{\max 2}$) максимумов и общего объема (S) генерируемых АФК.

Увеличение интегрального объема продукции всех видов АФК люминолзависимых АФК определяется ростом максимальной интенсивности и объема третьей компоненты генерации свободных радикалов кислорода – внутриклеточной и внеклеточной, несвязанных с процессом фагоцитоза. У быков разного возраста состояние образования АФК в крови в основном «альтернативное активизированное» и только в возрасте 47–50 месяцев – «отдых».

Эффект влияния взаимодействия факторов «сезон» и «возраст животного» на объем генерируемых АФК клетками крови быков статистически значим ($p < 0,01$) при показателе силы влияния для взаимодействия 13,87 %. При этом сила влияния фактора «возраст животного» составляет 19,75 %, а влияние фактора «сезон» на объем АФК – 4,75 %.

Литература

1. *Ездакова И.Ю., Еремина М.А., Попова Е.В.* Мониторинг состояния иммунитета у быков-производителей молочных и мясных пород // Российская сельскохозяйственная наука. 2016. № 1. С. 42–44.
2. *Зайцев С.Ю., Конопатов Ю.В.* Биохимия животных. Фундаментальные и клинические аспекты. СПб., 2004. 382 с.
3. *Маянский А.Н., Маянский Д.Н.* Очерки о нейтрофиле и макрофаге. Новосибирск, 1983. 340 с.
4. *Кулинский В.И.* Активные формы кислорода и оксидативная модификация макромолекул: польза, вред и защита // Соросовский образовательный журнал. 1999. № 1. С. 1–7.
5. *Владимиров Ю.А., Проскурнина Е.В.* Свободные радикалы и клеточная хемилюми-

- несценция // Успехи биологии. Химия. 2009. № 49. С. 341–388.
6. *Владимиров Ю.А.* Физико-химические основы патологии клетки: курс лекций. Лекция № 5. Перекисное окисление липидов. URL: booksee.org.
 7. *Созарукова М.М., Полимова А.М., Проскурнина Е.В.* и др. Изменения в кинетике хемилюминесценции плазмы как мера системного окислительного стресса // Биофизика. 2016. № 2. С. 337–344.
 8. *Образцов И.В., Годков М.А.* Хемилюминесцентный анализ клеток крови в медицине: история, теория, практика // Молекулярная медицина. 2013. № 4. С. 3–9.
 9. *Magrisso M.Y., Alexandrova M.L., Markova V.I.* et al. Functional states of polymorphonuclear leukocytes determined by chemiluminescent kinetic analysis // Luminescence, 2000. № 15. P. 143–145.
 10. *Еремина И.Ю., Макарская Г.В., Тарских С.В.* Возрастные особенности кислородного метаболизма клеток крови крупного рогатого скота // Вестник КрасГАУ. 2010. № 11. С. 128–135.
 11. *Федоров Г.Н., Леонов С.Д.* Особенности хемилюминесценции цельной разведенной крови. Математическая морфология // Электронный математический и медико-биологический журнал. 2007. № 6 (4).
 12. *Еремина И.Ю., Макарская Г.В., Шатурина Л.П.* Сравнительный анализ кинетики генерации АФК клетками крови быков-спермодоноров // Вестник КрасГАУ. 2005. № 7. С. 159–164.
 13. *Четвертакова Е.В.* Научно-практические методы контроля генофонда крупного рогатого скота Красноярского края. Красноярск, 2016. 216 с.
 14. *Gautam N., Chakraborty SP., Kundu PK., Roy S.* Age associated changes in antioxidant and antioxidative enzymes in human neutrophil of different aged people // Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 2012. S. 423–428.

References

1. *Ez dakova I.Yu., Eremina M.A., Popova E.V.* Monitoring sostoyaniya immuniteta u bykov-proizvoditelej molochnyh i myasnyh porod //

- Rossijskaya sel'skohozyajstvennaya nauka. 2016. № 1. S. 42–44.
2. Zajcev S.Yu., Konopatov Yu.V. Biohimiya zhivotnyh. Fundamental'nye i klinicheskie aspekty. SPb., 2004. 382 s.
3. Mayanskij A.N., Mayanskij D.N. Oчерки о нейтрофиле и макрофаге. Novosibirsk, 1983. 340 s.
4. Kulinskij V.I. Aktivnyye formy kisloroda i oksidativnaya modifikaciya makromolekul: pol'za, vred i zaschita // Sorosovskij obrazovatel'nyj zhurnal. 1999. № 1. S. 1–7.
5. Vladimirov Yu.A., Proskurnina E.V. Svobodnyye radikaly i kletochnaya hemilyuminescenciya // Uspehi biologii. Himiya. 2009. № 49. S. 341–388.
6. Vladimirov Yu.A. Fiziko-himicheskie osnovy patologii kletki: kurs lekcij. Lekciya № 5. Perekisnoe okislenie lipidov. URL: booksee.org.
7. Sozarukova M.M., Polimova A.M., Proskurnina E.V. i dr. Izmeneniya v kinetike hemilyuminescencii plazmy kak mera sistemnogo okislitel'nogo stressa // Biofizika. 2016. № 2. S. 337–344.
8. Obrazcov I.V., Godkov M.A. Hemilyuminescentnyj analiz kletok krovi v medicine: istoriya, teoriya, praktika // Molekulyarnaya medicina. 2013. № 4. S. 3–9.
9. Magrisso M.Y., Alexandrova M.L., Markova V.I. et al. Functional states of polymorphonuclear leukocytes determined by chemiluminescent kinetic analysis // Luminescence, 2000. № 15. P. 143–145.
10. Eremina I.Yu., Makarskaya G.V., Tarskih S.V. Vozrastnyye osobennosti kislorodnogo metabolizma kletok krovi krupnogo rogatogo skota // Vestnik KrasGAU. 2010. № 11. S. 128–135.
11. Fedorov G.N., Leonov S.D. Osobennosti hemilyuminescencii cel'noj razvedennoj krovi. Matematicheskaya morfologiya // `Elektronnyj matematicheskij i mediko-biologicheskij zhurnal. 2007. № 6 (4).
12. Eremina I.Yu., Makarskaya G.V., Shaturina L.P. Sravnitel'nyj analiz kinetiki generacii AFK kletkami krovi bykov-spermodonorov // Vestnik KrasGAU. 2005. № 7. S. 159–164.
13. Chetvertakova E.V. Nauchno-prakticheskie metody kontrolya genofonda krupnogo rogatogo skota Krasnoyarskogo kraja. Krasnoyarsk, 2016. 216 s.
14. Gautam N., Chakraborty SP., Kundu PK., Roy S. Age associated changes in antioxidant and antioxidative enzymes in human neutrophil of different aged people // Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 2012. S. 423–428.

