

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ БЛОКАТОРОВ НАКОПЛЕНИЯ КОНЕЧНЫХ ПРОДУКТОВ ГЛИКИРОВАНИЯ РАЗЛИЧНОГО МЕХАНИЗМА ДЕЙСТВИЯ В ОТНОШЕНИИ ОСТРОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ЛЕГКИХ, ВЫЗВАННОГО ВИРУСОМ ГРИППА А/Н1Н1РДМ09, В ЭКСПЕРИМЕНТАХ НА МЫШАХ

Александров Андрей Георгиевич

Аспирант, ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева»
Минздрава России, Санкт-Петербург
forphchemistry@gmail.com

Саватеева-Любимова Татьяна Николаевна

Д.м.н., профессор, в.н.с., ФГБУ «НИИ гриппа
им. А.А. Смородинцева» Минздрава России,
Санкт-Петербург
drug_safety@mail.ru

Жилинская Ирина Николаевна

Д.б.н., профессор, в.н.с., ФГБУ «НИИ гриппа
им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, Санкт-
Петербург
irina.zhilinskaya@influenza.spb.ru

EVALUATION OF THE ADVANCED GLYCATION END PRODUCTS BLOCKERS EFFECTIVENESS WITH DIFFERENT MECHANISM ON ACUTE LUNG INJURY INDUCED BY INFLUENZA VIRUS A/H1N1PDM09

**A. Aleksandrov
T. Savateeva-Lyubimova
I. Zhilinskaya**

Summary. This article evaluates the protective properties of blockers of advanced glycation end products (AGE) aminoguanidine bicarbonate and pyridoxine hydrochloride against virus-associated acute lung injury / acute respiratory distress syndrome (ALI/ARDS). ALI/ARDS model was performed by intranasal inoculation of the influenza A/California/7/09MA virus at a dose of 1 LD50 in mice. The severity of ALI/ARDS was assessed by the level of hemoglobin oxygen saturation and pathomorphological changes in the lungs. AGE's level was measured in the supernatant of the lung's homogenate by fluorescence. Both compounds showed significant role in correction of hypoxia and lung's damage, as well as the accumulation of AGE's at various stages of ALI/ARDS. At the same time aminoguanidine bicarbonate showed more protective properties than pyridoxine hydrochloride.

Obtained results are the reason for study of the mechanisms of suppressing the formation of AGEs and searching for new compounds that prevent their accumulation.

Keywords: advanced glycation end products, acute lung injury / acute respiratory distress syndrome, influenza infection.

Аннотация. В статье представлены данные по сравнительной оценке протективных свойств блокаторов накопления конечных продуктов гликирования (КПГ) аминоксидина бикарбоната и пиридоксина гидрохлорида в отношении острого повреждения легких/острого респираторного дистресс-синдрома (ОПЛ/ОРДС) у мышей, зараженных вирусом гриппа А/Н1Н1рДМ09. Воспроизведение модели ОПЛ/ОРДС осуществляли методом интраназальной инокуляции вируса гриппа штамма А/California/7/09МА в дозе 1 LD50. Оценку выраженности течения ОПЛ/ОРДС проводили по величине сатурации гемоглобина кислородом и патоморфологическим изменениям в лёгких. Содержание КПГ в лёгких определяли в супернатанте гомогената органа по уровню флуоресценции. Проведённое исследование показало, что оба соединения способствовали ограничению степени гипоксии и повреждения легких, а также накопления КПГ на различных этапах формирования ОПЛ/ОРДС. По совокупности данных показателей аминоксидин бикарбонат проявил более выраженные протективные свойства, чем пиридоксина гидрохлорид.

Полученные результаты являются основанием для углубленного изучения механизмов подавления образования КПГ и поиска новых соединений, препятствующих их накоплению.

Ключевые слова: конечные продукты гликирования, острое повреждение легких/острый респираторный дистресс-синдром, гриппозная инфекция.

Введение

В период пандемии гриппозной инфекции, вызванной вирусом гриппа A/H1N1pdm09 в 2009 году, у больных с высокой частотой наблюдалось развитие ОПЛ и его наиболее тяжёлой формы — ОРДС [1; 2]. При этом несмотря на специфическую этио- и патогенетическую терапию доля летальных исходов доходила до 30% [3; 4].

В связи с этим продолжается поиск новых средств фармакотерапии, направленных, в первую очередь, на ограничение системной воспалительной реакции, как основного патогенетического звена ОПЛ/ОРДС [5–9]. В настоящее время известно, что наряду с Толл-подобными рецепторами и рецепторами цитокинов, существенное провоспалительное действие оказывают конечные продукты гликирования [10–12]. Последнее подразумевает необходимость поиска возможных путей коррекции их накопления. Так, была показана позитивная роль ряда блокаторов данного процесса при моделировании каррагинанового локального воспаления, паразитарной инфекции, КПП-опосредованного аортита [13–15]. В основе механизма их действия может лежать как прямое связывание промежуточных продуктов гликирования путём образования ковалентных связей (аминогуанидин, 2,3-диаминофеназин, ОРВ-9195) [16], так и предотвращение самоокисления глицеральдегид-3-фосфата до метилглиоксаля (основного предшественника КПП) (пиридоксин, тиамин, бенфотиамин) [16; 17]. При этом тиамин и бенфотиамин сдвигают процесс утилизации молекулы глюкозы в сторону пентозо-фосфатного пути за счет активации тиамин-зависимой транскетолазы [18], а пиридоксин и его метаболиты пиридоксаль и пиридоксаль фосфат способствуют снижению выраженности оксидативного стресса путём связывания свободных гидроксильных радикалов (•ОН) [19–20]. Накопление последних в митохондриях вызывает снижение активности глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназы, что приводит к замедлению ферментативной утилизации субстрата [16].

Целью настоящей работы являлось сравнительное изучение эффективности блокаторов накопления КПП различного механизма действия при заражении мышей вирусом гриппа A/H1N1pdm09 в дозе, равной 1 ЛД50.

Материалы и методы

Эксперименты были проведены на беспородных мышах (n=135), полученных из ФГУП «Питомник лабораторных животных «Рапполово» РАН (Ленинградская область)». Все манипуляции осуществляли в соответствии с директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Европейского союза по охране животных, используе-

мых в научных целях (Rus-LASA, 2012). Проведение работы одобрено на заседании этического комитета ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А.Смородинцева» Минздрава России» (протокол № 100 от 15.12.2015).

ОПЛ моделировали путём интраназальной инокуляции вируса гриппа штамма A/California/7/09 MA (H1N1) pdm09 в дозе, равной 1 LD50 (3,4 log10 EID), определённой в предварительных экспериментах по методике Рида-Менча [21]. Вирусную природу ОПЛ подтверждали постановкой реакции гемагглютинации по образованию характерного «зонтика» в смеси [22].

Экспериментальные животные были разделены на 4 группы: группа № 1 □ интактные животные (n=15); группа № 2 □ инфицированные мыши, получавшие подкожно (п/к) фосфатно-солевой буфер (n=40); группа № 3 — инфицированные мыши, получавшие пиридоксина гидрохлорид п/к 25 мг/кг (n=40); группа № 4 — инфицированные мыши, получавшие аминоксидин бикарбонат п/к 25 мг/кг (n=40). Изучаемые соединения вводили в течение первых 7-ми дней после инфицирования. Животные внутри 2-й, 3-ей и 4-й группы были разделены на равные подгруппы. В первых подгруппах оценивали уровень летальности. Во вторых подгруппах часть животных подвергали плановой эвтаназии на 4-е и 7-е сутки после инфицирования с целью забора биоматериала. Оценку уровня сатурации гемоглобина крови кислородом проводили по методике Джонкинса [23]. Оценку оптической плотности растворов гемоглобина осуществляли на приборе АБхФк-02-«НПП-ТМ» (Россия). Концентрацию КПП определяли путём оценки уровня флуоресценции супернатанта гомогената лёгких при длинах волн: λex=360 нм, λem=440 нм на флуоресцентном модуле прибора CLARIOstar (Германия) [24]. Легкие животных после плановой эвтаназии фиксировали в 10% формалине (рН=7,4), срезы окрашивали гематоксилин-эозином [25]. Степень поражения лёгких оценивали по методике [26], заключающейся в подсчёте типовых патоморфологических проявлений ОПЛ/ОРДС, наблюдаемых при микроскопировании гистологических препаратов в 20 полях при увеличении ×400, с последующим присвоением баллов. Выраженность повреждения оценивали по формуле 1.

$$\begin{aligned} \text{Степень поражения} &= \\ &= \frac{(20 \cdot A) + (14 \cdot B) + (7 \cdot C) + (7 \cdot D) + (2 \cdot E)}{\text{количество просмотренных полей} \cdot 100}, \end{aligned} \quad (1)$$

где А (количество нейтрофилов в альвеолах), В (количество нейтрофилов в интерстиции), С (количество гиалиновых мембран), D (наличие белкового дебриса в воздушном пространстве), E (утолщение альвеолярной перегородки).

Таблица 1. Суммарная полуколичественная оценка степени поражения лёгких (Mean±SE, баллы)

Изучаемые показатели (Mean±SE)	Интактные (гр. № 1) (n=15)	Опытные группы и сроки исследования					
		4 сутки			7 сутки		
		Гр.№ 2 (n=5)	Гр.№ 3 (n=5)	Гр.№ 4 (n=5)	Гр.№ 2 (n=5)	Гр.№ 3 (n=5)	Гр.№ 4 (n=5)
Суммарная оценка, баллы	0,06±0,00	0,39±0,02 *	0,37±0,01 *	0,35±0,01 *#	0,67±0,01 *	0,63±0,01 *#	0,56±0,01 *#\\$

Примечание: * — $p < 0,05$ по отношению к группе № 1; # — $p < 0,05$ по отношению к группе № 2; \$ — $p < 0,05$ по отношению к группе № 3. Сравнения приведены внутри своего временного отрезка. Гр.№ 1 — интактные мыши (n=15); Гр.№ 2 — инфицированные мыши, получавшие фосфатно-солевой буфер; Гр.№ 3 — инфицированные мыши, получавшие пиридоксина гидрохлорид; Гр.№ 4 — инфицированные мыши, получавшие амингуанидина бикарбонат.

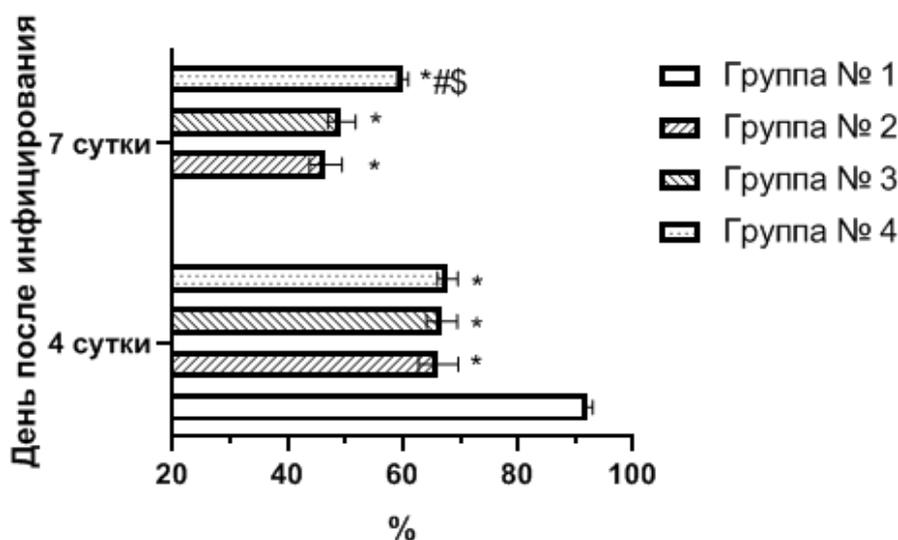


Рис. 1. Динамика изменения уровня сатурации гемоглобина крови кислородом (%)
* — $p < 0,05$ по отношению к группе № 1; # — $p < 0,05$ по отношению к группе № 2; \$ — $p < 0,05$ по отношению к группе № 3. Сравнения приведены внутри своего временного отрезка (n=5 в каждой опытной группе).

Гр.1 — интактные мыши (группа № 1, n=15); Гр.2 — инфицированные мыши, получавшие фосфатно-солевой буфер (группа № 2); Гр.3 — инфицированные мыши, получавшие пиридоксина гидрохлорид (группа № 3); Гр.4 — инфицированные мыши, получавшие амингуанидина бикарбонат (группа № 4).

Оценку статистической значимости различий проводили при помощи программы Graphpad Prism 8. Для регистрируемых количественных параметров рассчитывали показатели описательной статистики, включавшие в себя среднее арифметическое значение параметра в группе (Mean), стандартное отклонение параметра (Std.Dev., SD), стандартную ошибку среднего (Std.Err., SE), 25-й и 75-й перцентили. Для оценки различий между выборками применяли тесты Краскела–Уоллиса и Манна–Уитни. Представленные в таблице и на рисунках данные указаны в виде среднего арифметического и его ошибки (Mean±SE). Достоверность различий вычисляли с помощью критерия Мантела–Кокса. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$ [27].

Результаты и их обсуждение

Гибель животных после заражения наблюдалась, начиная с 5-х по 10-е сутки во всех опытных группах. Общая выживаемость в течение эксперимента составила 35% в группе № 2, 65% ($p=0,1003$) — в группе, получавшей пиридоксина гидрохлорид, и 70% ($p=0,0469$) — в группе, получавшей амингуанидина бикарбонат.

Анализ показателей, характеризующих развитие ОПЛ/ОРДС, продемонстрировал прогрессивное снижение уровня сатурации гемоглобина крови кислородом на 30% и на 50% (рисунок 1) и увеличение степени повреждения легких в 6,5 и 11,2 раз на 4-е и 7-е сутки после

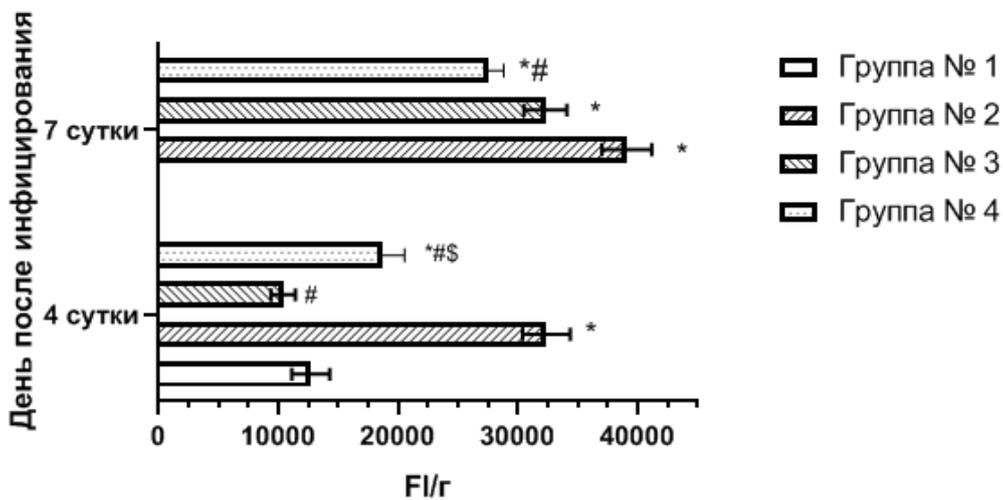


Рис. 2. Динамика накопления КПГ в ткани лёгких (FI/г).

* — $p < 0,05$ по отношению к группе № 1; # — $p < 0,05$ по отношению к группе № 2; \$ — $p < 0,05$ по отношению к группе № 3. Сравнения приведены внутри своего временного отрезка ($n=5$ в каждой опытной группе).

Гр.1 — интактные мыши (группа № 1, $n=15$); Гр.2 — инфицированные мыши, получавшие фосфатно-солевой буфер (группа № 2, $n=5$); Гр.3 — инфицированные мыши, получавшие пиридоксин (группа № 3, $n=5$); Гр.4 — инфицированные мыши, получавшие аминоксантидин (группа № 4, $n=5$).

инфицирования, соответственно (таблица 1) у животных из контрольной группы (фосфатно-солевой буфер). Аналогичная картина наблюдалась и в отношении нарастания содержания КПГ в легких (рисунок 2).

Анализ влияния изучаемых соединений на степень гипоксии продемонстрировал, что на 4-е сутки эксперимента у животных, получавших как аминоксантидина бикарбонат, так и пиридоксина гидрохлорид, уровень сатурации гемоглобина кислородом не отличался от такового у инфицированных мышей из группы № 2 и был значительно ниже, чем у интактных особей (рисунок 1). На 7-е сутки эксперимента в группе животных, получавших пиридоксина гидрохлорид, имело место дальнейшее снижение значения данного показателя аналогично таковому у особей из контрольной группы (группа № 2). Аминоксантидина бикарбонат, при этом, практически предотвратил прогрессирующее снижение уровня сатурации гемоглобина кислородом ($p=0,0079$) по отношению к контрольным животным.

Оценка влияния изучаемых соединений на степень повреждения лёгочной паренхимы показала, что в условиях применения аминоксантидина бикарбоната наблюдалось ограничение данного процесса на 4-е и, максимально, на 7-е сутки ($p=0,0159$ и $p=0,0079$, соответственно, по отношению к животным из группы № 2, в отличие от пиридоксина гидрохлорида, значимое протективное действие которого имело место только

к окончанию эксперимента ($p=0,0317$). При этом на данном этапе развития патологии аминоксантидина бикарбонат по своей эффективности значительно превосходил пиридоксина гидрохлорид. Таким образом, по совокупности типовых показателей, характеризующих развитие ОПЛ/ОРДС, аминоксантидина бикарбонат проявил более выраженные протективные свойства, чем пиридоксина гидрохлорид.

Применение обоих изучаемых соединений привело к неоднозначному ограничению роста КПГ на различных сроках формирования ОПЛ/ОРДС. Так, на 4-е сутки эксперимента у животных, получавших пиридоксина гидрохлорид, рост уровня КПГ в легких отсутствовал ($p=0,0079$), в то время как применение аминоксантидина способствовало частичному ограничению прироста их концентрации (в 3,3 раза по отношению к контрольным животным, $p=0,0079$). На 7-е сутки эксперимента в обеих группах животных, получавших изучаемые соединения, наблюдалось дальнейшее повышение уровня КПГ по отношению к интактным особям. При этом степень выраженности данного показателя только у мышей, которым вводили аминоксантидина бикарбонат, была значительно ниже в сравнении с животными из контрольной группы ($p=0,0079$).

Выявленные различия в действии изучаемых соединений на уровень КПГ на начальном и последующем этапах формирования ОПЛ/ОРДС могут быть связаны

с особенностями механизма их воздействия на процесс накопления данных продуктов. Так, в основе действия пиридоксина гидрохлорида лежит связывание свободных гидроксильных радикалов, рост которых приобретает «взрывной» характер по мере усугубления повреждения легких вследствие чрезмерной генерации их фагоцитами, с одной стороны, и развивающейся функциональной недостаточностью антиоксидантной защиты, с другой стороны [28]. Этим можно объяснить эффективность данного соединения в отношении накопления КПП на начальном этапе формирования патологии и нивелирование такового действия в дальнейшем. Аминогуанидина бикарбонат предотвращает накопление КПП путем образования ковалентных связей с промежуточными продуктами гли-

кирования (в частности, с продуктами реакции Амадори). По-видимому, в этом случае влияние окислительного стресса на данный процесс не играет существенной роли [16], что и объясняет возрастающую эффективность аминогуанидина бикарбоната по мере увеличения продолжительности введения опытным животным.

Заключение

Полученные результаты являются основанием для дальнейшего изучения возможности применения блокаторов образования КПП различного механизма действия с целью коррекции течения экспериментального ОПЛ/ОРДС вирусного генеза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Quispe-Laime A.M. H1N1 influenza A virus-associated acute lung injury: response to combination oseltamivir and prolonged corticosteroid treatment / A. M. Quispe-Laime, J. D. Bracco, P. A. Barberio [et al] // *Intensive Care Med*, 2010. — Vol. 36, P. 33–41, doi: 10.1007/s00134-009-1727-6.
2. Yokoyama T. Case series of ALI/ARDS due to the novel influenza virus infection / T. Yokoyama, K. Kubo // *Japanese Journal of Chest Diseases*, 2010. — Vol. 69, Iss. 12, P. 1096–1102.
3. Всемирная организация здравоохранения [Электронный ресурс] — Режим доступа: https://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/h1n1_guidelines_pharmaceutical_mngt.pdf — Заглавие с экрана (Дата обращения 01.08.19).
4. Clinical management of human infection with pandemic (H1N1) 2009: revised guidance [Электронный ресурс] — Режим доступа: https://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/clinical_management_h1n1.pdf — Заглавие с экрана (Дата обращения 23.09.2019)
5. Han S. The acute respiratory distress syndrome: from mechanism to translation / S. Han, R. K. Mallampalli // *Journal of immunology*, 2015. — Vol. 194, Iss.3, P. 855–860, doi: 10.4049/jimmunol.1402513.
6. Samra T. Comparative evaluation of acute respiratory distress syndrome in patients with and without H1N1 infection at a tertiary care referral center/ T. Samra, M. Pawar and A. Yadav// *Indian Journal of Anaesthesia*, 2011. — Vol. 55, Iss. 1, P. 47–51, doi: 10.4103/0019-5049.76602.
7. Clowes G. H.A. Septic Lung and Shock Lung in Man/ G.H.A. Clowes, E. Hirsch, L. Williams [et al] // *Annals of Surgery*, 1975. — Vol. 181, Iss. 5, P. 681–692, doi: 10.1097/0000658-197505000-00024.
8. Bernard G. R. The American-European Consensus Conference on ARDS. Definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination / G. R. Bernard, A. Artigas, K. L. Brigham [et al]// *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 1994. — Vol. 149, Iss. 3, P. 818–824, doi: 10.1164/ajrccm.149.3.7509706.
9. Ferguson N. D. The Berlin definition of ARDS: an expanded rationale, justification, and supplementary material / N. D. Ferguson, E. Fan, L. Camporota [et al] // *Intensive Care Medicine*, 2012. — Vol. 38, Iss. 10, P. 1573–1582, doi: 10.1007/s00134-012-2682-1.
10. Kierdorf K. RAGE regulation and signaling in inflammation and beyond / K. Kierdorf, G. Fritz // *Journal Leukocyte Biology*, 2013 — Vol. 94, Iss. 1, P. 55–68, doi: 10.1189/jlb.1012519.
11. Davis K. E. Advanced Glycation End Products, Inflammation, and Chronic Metabolic Diseases: Links in a Chain?/ K. E. Davis, Ch. Prasad, P. Vijayagopal [et al] // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2014. — Vol.56, Iss.6, P. 989–998, doi: 10.1080/10408398.2012.744738.
12. Успенская Ю. А. Рецепторы конечных продуктов гликирования белков RAGE: лиганды, биологические эффекты и роль в нейродегенерации / Ю. А. Успенская, Я. В. Горина, В. В. Салмин [и др.] // *Вестник Новосибирского гос. ун-та. Серия: Биология, клиническая медицина*, 2014. — Т. 12, Вып. 4. С. 68–76.
13. Dudhgaonkar S. P. Synergistic anti-inflammatory interaction between meloxicam and aminoguanidine hydrochloride in carrageenan-induced acute inflammation in rats / S. P. Dudhgaonkar, S. K. Tandan, A. S. Bhat [et al]// *Life Sciences*, 2006. — Vol.78, Iss.10, P. 1044–1048, doi:10.1016/j.lfs.2005.06.002.
14. Kołodziej-Sobocińska M. In vivo inhibition of inducible nitric oxide synthase by aminoguanidine influences free radicals production and macrophage activity in *Trichinella spiralis* infected low responders (C57BL/6) and high responders (BALB/c) mice / M. Kołodziej-Sobocińska, B. Machnicka-Rowińska // *Helminthologia* 49, 189–200 (2012). doi: 10.2478/s11687-012-0038-6.
15. Matsui T. Sulforaphane reduces advanced glycation end products (AGEs)-induced inflammation in endothelial cells and rat aorta / T. Matsui, N. Nakamura, A. Ojima [et al] // *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 2016. — Vol.26, Iss.9, P. 797–807, doi:10.1016/j.numecd.2016.04.008.
16. Nagai R. Chelation: a fundamental mechanism of action of AGE inhibitors, AGE breakers, and other inhibitors of diabetes complications / R. Nagai, D. B. Murray, T. O. Metz [et al] // *Diabetes*, 2012. — Vol.61, Iss.3, P. 549–559, doi:10.2337/db11-1120.
17. Velásquez M. Pyridoxine Decreases Oxidative Stress on Human Erythrocyte Membrane Protein in vitro / M. Velásquez, D. Méndez, C. Moneriz// *The Open Biochemistry Journal*, 2019. — Vol. 13, P. 37–44. doi: 10.2174/1874091X01913010037.
18. Balakumar P. The multifaceted therapeutic potential of benfotiamine / P. Balakumar, A. Rohilla, P. Krishan [et al] // *Pharmacological Research*, 2010. — Vol.61, Iss. 6, P. 482–488. doi:10.1016/j.phrs.2010.02.008.

19. Hu M.-L. The antioxidant and prooxidant activity of some B vitamins and vitamin-like compounds / M.-L. Hu, Y.-K. Chen & Y.-F. Lin // *Chemico-Biological Interactions*, 1995. — Vol.97, Iss.1, P. 63–73, doi:10.1016/0009–2797(95)03608–8.
20. Taş S Vitamin B6 supplementation improves oxidative stress and enhances serum paraoxonase/arylesterase activities in streptozotocin-induced diabetic rats / S. Taş, E. Sarandöl, M. Dirican // *Scientific World Journal*, 2014. — Vol.2014, Article ID351598, doi:10.1155/2014/351598.
21. Burleson F.G. Introduction to quantal virus assays / F. G. Burleson, T. M. Chambers, D. L. Wiedbank // In: *Virology: a laboratory manual* / eds. F. G. Burleson, T. M. Chambers, D. L. Wiedbrauk. — Academic Press, San Diego, 1991. — P. 53–57.
22. Ожередова Н. А. Общая вирусология: Методические указания / Н. А. Ожередова, М. Н. Веревкин, Е. В. Светлакова— Ставрополь: АГРУС, 2013. — 50 с.
23. Jonxis J. H. P. The determination of oxygen saturation in small amounts of blood, by means of the Pulfrich step photometer / J. H. P. Jonxis // *Acta Medica Scandinavica*, 1943. — Vol.115, Iss.5, P. 425–428, doi:10.1111/j.0954–6820.1943.tb15858.x.
24. Yanagisawa K. Specific fluorescence assay for advanced glycation end products in blood and urine of diabetic patients / K. Yanagisawa, Z. Makita, K. Shiroshita [et al] // *Metabolism*, 1998. — Vol. 47, Iss. 11, P. 1348–1353, doi:10.1016/s0026–0495(98)90303–1.
25. Коржевский Д. Э. Основы гистологической техники / Д. Э. Коржевский, А. В. Гиляров. — СПб: СпецЛит, 2010. — 95 с.
26. Matute-Bello G. An official American Thoracic Society workshop report: features and measurements of experimental acute lung injury in animals / G. Matute-Bello, G. Downey, B. B. Moore [et al] // *American journal of respiratory cell and molecular biology*, 2011. — Vol.44, Iss.5, P. 725–738, doi:10.1165/rcmb.2009–0210ST
27. Гланц С. Медико-биологическая статистика / Гланц С.; пер. с англ. — М., Практика, 1998. — 459 с.
28. Соодаева С. К. Свободно-радикальные механизмы повреждения при болезнях органов дыхания / С. К. Соодаева // *Пульмонология*, 2012. — Вып.1, С. 5–10, doi:10.18093/0869–0189–2012–0–1–5–10.

© Александров Андрей Георгиевич (forphchemistry@gmail.com),

Саватеева-Любимова Татьяна Николаевна (drug_safety@mail.ru), Жилинская Ирина Николаевна (irina.zhilinskaya@influenza.spb.ru).

Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»



НИИ гриппа им. А.А. Сморodinцева