

УДК 616-005; 616-092.9; 616.24-001
DOI: 10.24884/1682-6655-2023-22-3-86-95

В. А. ПУГАЧ^{1, 2}, С. Г. ЧЕФУ², М. А. ТЮНИН¹,
Е. И. СТРОКИНА¹, Д. Р. ФАЙЗУЛЛИНА², Н. Н. ПЕТРИЩЕВ²

Экспериментальная оценка показателей капиллярного кровотока, гемореологии и гемостаза на модели острого респираторного дистресс-синдрома у крыс

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия 195043, Россия, Санкт-Петербург, ул. Лесопарковая, д. 4

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия 197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8
E-mail: gniivm_7@mil.ru

Статья поступила в редакцию 30.05.2023 г.; принята к печати 28.07.2023 г.

Резюме

Цель – оценка диагностических и прогностических возможностей показателей капиллярного кровотока на экспериментальной модели острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) с последующим анализом гемореологических и гемостазиологических параметров как основных факторов, влияющих на эффективность микрососудистой перфузии. **Материалы и методы.** Работа выполнена на 30 крысах-самцах стока Wistar. Модель ОРДС средней степени тяжести воспроизводили посредством внутритрахеального введения липополисахарида *Salmonella enterica* в дозе 20,0 мг/кг. Для моделирования ОРДС тяжелой степени использовали липополисахарид в дозе 30,0 мг/кг. На 2-е сутки после воздействия крысам проводили компьютерную капилляроскопию околокогтевых валиков, после чего у животных отбирали пробы венозной крови для определения уровня С-реактивного белка, исследования гемореологических показателей и показателей плазменного гемостаза. С целью оценки степени выраженности отека рассчитывали массовый коэффициент легких. **Результаты.** На фоне ОРДС при капилляроскопии околокогтевых валиков у крыс выявлено снижение скорости кровотока на 34,67 % ($p < 0,05$) в артериальном отделе капилляров, тенденция к спазму артериол и расширению венул, а также наличие внутрисосудистых агрегатов. Кроме этого, у всех экспериментальных животных отмечено увеличение предела текучести крови, повышение содержания фибриногена, растворимых фибрин-мономерных комплексов и С-реактивного белка ($p < 0,05$). Значимых изменений в показателях капиллярного кровотока при ОРДС различной степени тяжести не наблюдали, вместе с тем показатели предела текучести крови, активности антитромбина и гематокрита обладали достаточным уровнем прогностической способности ($AUC > 0,8$; $p < 0,05$). **Заключение.** Показатели капиллярного кровотока в совокупности с гемореологическими и гемостазиологическими параметрами могут быть использованы при проведении доклинических исследований эффективности лекарственных средств, направленных на коррекцию системной дисфункции микроциркуляции, в том числе при экспериментальном ОРДС.

Ключевые слова: острый респираторный дистресс-синдром, биомоделирование, липополисахарид, микроциркуляция, компьютерная капилляроскопия, гемореология, гемостаз

Для цитирования: Пугач В. А., Чёфу С. Г., Тюнин М. А., Строкина Е. И., Файзуллина Д. Р., Петрищев Н. Н. Экспериментальная оценка показателей капиллярного кровотока, гемореологии и гемостаза на модели острого респираторного дистресс-синдрома у крыс. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2023; 22(3): 86–95. Doi: 10.24884/1682-6655-2023-22-3-86-95.

UDC 616-005; 616-092.9; 616.24-001
DOI: 10.24884/1682-6655-2023-22-3-86-95

V. A. PUGACH^{1, 2}, S. G. CHEFU², M. A. TYUNIN¹,
E. I. STROKINA¹, D. R. FAIZULLINA², N. N. PETRISHCHEV²

Experimental evaluation of parameters of capillary blood flow, hemorheology and hemostasis on a model of acute respiratory distress syndrome in rats

¹ State Scientific Research Testing Institute of Military Medicine, Saint Petersburg, Russia

4, Lesoparkovaya str., Saint Petersburg, Russia, 195043

² Pavlov University, Saint Petersburg, Russia

6-8, L'va Tolstogo str., Saint Petersburg, Russia, 197022

E-mail: gniivm_7@mil.ru

Received 30.05.2023; accepted 28.07.2023

Summary

The *aim* is to evaluate the diagnostic and prognostic capabilities of capillary blood flow parameters on an experimental model of acute respiratory distress syndrome (ARDS) with subsequent analysis of hemorheological and hemostasiological parameters

as the main factors affecting the effectiveness of microvascular perfusion. *Materials and methods.* The work was performed on 30 Wistar male rats. The ARDS model of mild severity was reproduced by intratracheal administration of Salmonella enterica lipopolysaccharide at a dose of 20.0 mg/kg. Lipopolysaccharide at a dose of 30.0 mg/kg was used to reproduce severe ARDS. On day 2 after exposure, the rats underwent computer capillaroscopy of the periarticular rollers after which venous blood samples were taken from the animals to determine the level of C-reactive protein and to study hemorheological parameters and parameters of coagulation hemostasis. In order to assess the severity of edema, the mass coefficient of the lungs was calculated. *Results.* At ARDS, capillaroscopy of the periarticular rollers in rats revealed a decrease in blood flow rate by 34.67 % ($p < 0.05$) in the arterial part of the capillaries, a tendency to spasm of arterioles and expansion of venules, as well as the presence of intravascular aggregates. In addition, all experimental animals showed an increase in blood shear yield stress, and an increase in the content of fibrinogen, soluble fibrin-monomer complexes and C-reactive protein ($p < 0.05$). No significant changes in capillary blood flow indices were observed in ARDS of varying severity. However, the parameters of blood shear yield stress, antithrombin activity and hematocrit had a sufficient level of prognostic ability ($AUC > 0.8$; $p < 0.05$). *Conclusion.* Indicators of capillary blood flow in combination with hemorheological and hemostasiological parameters can be used in conducting preclinical studies of the effectiveness of drugs aimed at correcting systemic dysfunction of microcirculation including experimental ARDS.

Keywords: acute respiratory distress syndrome, biomodeling, lipopolysaccharide, microcirculation, computer capillaroscopy, hemorheology, hemostasis

For citation: Pugach V. A., Chefu S. G., Tyunin M. A., Strokin E. I., Faizullina D. R., Petrishchev N. N. Experimental evaluation of parameters of capillary blood flow, hemorheology and hemostasis on a model of acute respiratory distress syndrome in rats. *Regional hemodynamics and microcirculation.* 2023;22(3):86–95. Doi: 10.24884/1682-6655-2023-22-3-86-95.

Введение

Острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) – критическое состояние, которое характеризуется диффузным воспалительным повреждением легочной паренхимы и развитием некардиогенного отека легких. Все многообразие вызывающих ОРДС причин подразделяется на легочные (при прямом повреждении легких) и внелегочные (при опосредованном или непрямом повреждении легких). Наиболее распространенные легочные причины ОРДС: вирусно-бактериальные пневмонии, аспирационный синдром, воздействие пульмонотоксикантов, ушиб легкого и др. К основным внелегочным причинам относят сепсис, обширные ожоги, политравму, кровопотерю и др. [1]. Вне зависимости от этиологического фактора ведущее патогенетическое значение для развития ОРДС играет изменение функционального состояния эндотелия, приводящее к нарушению тонуса сосудов, повышению сосудистой проницаемости, активации микротромбообразования и расстройству вентиляционно-перфузионных отношений в легких. Наряду с этим прогрессируют системные нарушения микроциркуляции и эндотелиальная дисфункция, способствуя развитию синдрома полиорганной недостаточности с высоким риском летального исхода [2, 3].

Повреждение эндотелиоцитов сосудов легких при ОРДС может быть вызвано непосредственным действием этиологических факторов (прямое цитотоксическое действие), а также на фоне продукции различных медиаторов воспаления, что приводит к нарушению функционального состояния эндотелия. Снижение тромборезистентности сосудов и активация тромбообразования провоцируют развитие нарушений регионарного кровообращения в легких и, как следствие, расстройства вентиляционно-перфузионных отношений с последующим ухудшением газообмена. Дисбаланс между вазодилатирующими и вазоконстрикторными эндотелиальными факторами вызывает комплекс вазомоторных нарушений в виде гипоксической легочной вазоконстрикции, легочной гипертензии, шунтирования венозной крови, приводя к прогрессирующей гипоксемии [2, 4]. Помимо

критических нарушений газообмена при ОРДС происходит расстройство и недыхательных функций легких. Основные изменения касаются метаболической функции, которая проявляется в дисбалансе синтеза/инактивации факторов, участвующих в реализации механизмов гемостаза, что усугубляет тяжесть гиперкоагуляционных изменений и интенсифицирует процессы тромбоза в микрососудах легких [5]. Развитие местной воспалительной реакции в легких приводит к генерализации патологического процесса в виде системного воспалительного ответа, сопровождаясь риском внелегочных осложнений (острое повреждение почек, печени, миокарда, тромбоэмболия и др.) [6–9].

Многочисленные литературные данные свидетельствуют о том, что изменения легочной микроциркуляции играют ключевую роль в патогенезе ОРДС, в том числе на фоне новой коронавирусной инфекции (COVID-19), обуславливая необходимость мониторинга и коррекции этих нарушений [10]. Как известно, прямая оценка состояния микроциркуляторного русла легких сопряжена со значительными техническими ограничениями, в особенности при проведении экспериментальных исследований на лабораторных животных. Наряду с этим результаты ряда работ позволяют предположить, что изменения периферической микроциркуляции косвенно отражают системные изменения микроциркуляции на органном уровне, в том числе при ОРДС, его внелегочных осложнениях и формировании синдрома полиорганной недостаточности (СПОН) [10, 11]. Особый интерес представляют результаты клинических исследований, в которых показаны возможности оценки периферической микроциркуляторной функции у пациентов в критическом состоянии при помощи переносной витальной микроскопии ногтевого ложа [12–14]. Простота выполнения манипуляций, неинвазивность, безопасность и информативность капилляроскопии позволяют проводить мониторинг состояния микрососудов прижизненно, т.е. в режиме реального времени [15, 16].

Известно, что эффективность микрососудистой перфузии тканей зависит от функционального состояния системы гемостаза и от таких гемореологических

характеристик, как вязкость крови, ее текучесть и гематокрит. Мониторинг ряда рутинных гемостазиологических и гемореологических показателей на фоне ОРДС в настоящее время активно используется при проведении клинических и экспериментальных исследований, ввиду доступности и быстроты используемых методик [3]. Наряду с этим при ОРДС недостаточно изучен характер изменений периферической микроциркуляторной функции, что может представлять особую важность для оценки тяжести и прогноза течения этого жизнеугрожающего синдрома. Следует отметить, при системном воспалительном ответе изменения микрососудистой перфузии часто наблюдаются в отсутствие изменений системной гемодинамики, подтверждая диагностическую и прогностическую ценность методов, позволяющих исследовать периферический кровоток [10].

Цель работы – оценка диагностических и прогностических возможностей показателей капиллярного кровотока на экспериментальной модели ОРДС с последующим анализом гемореологических и гемостазиологических параметров как основных факторов, влияющих на эффективность микрососудистой перфузии.

Материалы и методы исследования

Работа выполнена на 30 взрослых крысах-самках стока Wistar, массой тела 300–350 г (питомник «Рапполово», Ленинградская область). ОРДС моделировали посредством однократного внутри-трахеального введения (в/т) липополисахарида (ЛПС) *Salmonella enterica* в дозе 20,0 мг/кг для воспроизведения ОРДС средней степени тяжести (ОРДС(средн)) и в дозе 30,0 мг/кг для воспроизведения ОРДС тяжелой степени (ОРДС(тяж)). ЛПС вводили в виде раствора на фосфатно-солевом буфере (ФСБ) в объеме 1,5 мл на 1 кг массы тела животного. В качестве контроля использовали крыс после в/т введения ФСБ в аналогичном объеме. Дозы ЛПС для моделирования ОРДС подбирали с учетом результатов предыдущих исследований [17, 18]. Животных содержали в условиях вивария с соблюдением основных зоогигиенических норм и правил. Исследования проводили в соответствии с требованиями приказа Минздрава России от 01.04.2016 г. № 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики». Экспериментальная работа одобрена биоэтической комиссией ГНИИИ ВМ МО РФ (№ 21 от 13.10.2022 г.).

На 2-е сутки после моделирования ОРДС крысам проводили компьютерную капилляроскопию, после чего у животных отбирали пробы венозной крови для лабораторных исследований, а также легкие – с целью оценки массового коэффициента. Наркотизацию животных выполняли раствором «Золетил 100» в дозе 10,0 мг/кг. Для оценки диаметра сосудов, скорости кровотока и визуализации изменений сосудов микроциркуляторного русла выполняли компьютерную капилляроскопию (КК4-01-«ЦАВ», Россия) в области окологтевого валика I и II пальцев правой грудной конечности. Перед исследованиями микроциркуляции наркотизированных крыс помещали на

термостатируемый столик Physitemp TCAT-2LV для контроля и поддержания постоянной температуры тела животных. После проведения компьютерной капилляроскопии отбирали пробы венозной крови для определения уровня С-реактивного белка, исследования гемореологических показателей и показателей плазменного гемостаза.

Исследование вязкости проводили в пробах гепаринизированной крови (объем 2,0 мл) на вибрационном вискозиметре SV-1A (AND, Япония). Для получения значения динамической вязкости (η) полученные на приборе значения делили на величину плотности образца ($\rho=1,05 \text{ г/см}^3$) для заданной температуры.

Определение гематокрита выполняли в крови (объем 1,0 мл), стабилизированной $\text{K}_2\text{ЭДТА}$, на автоматическом ветеринарном гематологическом анализаторе («Mythic 18 Vet», Швейцария) в составе клинического анализа крови.

Для расчета предела текучести использовали 2 формулы, диагностическая ценность которых была продемонстрирована, по данным литературы, в других экспериментальных работах:

$$\tau = -0,091 + 0,47 \cdot \text{Ht} + 0,22 \cdot \text{F} - 0,14 \cdot \text{F}^2 + 0,48 \cdot \text{Ht} \cdot \text{F} \quad [19], \quad (1)$$

$$\tau = (\text{Ht} - 10) \times (\text{F} + 0,5) / 100 \quad [20], \quad (2)$$

где τ – предел текучести крови; Ht – значение гематокрита, %; F – концентрация фибриногена, г/дл.

Содержание С-реактивного белка (СРБ) и показатели плазменного гемостаза исследовали в пробах цитратной плазмы (при отборе цельной крови в объеме 3,0 мл). Детекцию СРБ выполняли в микропланшетном формате на автоматическом биохимическом анализаторе («ChemWell 2910», США) с использованием коммерческих наборов («СРБ-Ново», АО «Вектор-Бест», Россия). Активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), протромбиновое время (ПВ), тромбиновое время (ТВ) и уровень фибриногена (коммерческие наборы «Tcoag», Ирландия) определяли на полуавтоматическом анализаторе-коагулометре («Tcoag KC 4 Delta», Ирландия). Уровень растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК) исследовали в паракоагуляционном фенантролиновом тесте (НПО «Ренам», Россия). Активность антитромбина определяли на спектрофотометре (ThermoFisher Scientific Multiskan Go 1510, Финляндия) при помощи коммерческих наборов (НПО «Ренам», Россия).

После обескровливания животного с целью оценки выраженности отека легких рассчитывали массовый коэффициент органа (МКЛ, отношение массы легочного комплекса к массе животного)

Статистический анализ полученных результатов проводили при помощи пакетов программ Prism GraphPad 9.0 (GraphPad Software, США). Результаты исследования приведены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей – Me [Q1;Q3]. Множественные сравнения несвязанных выборок выполняли с использованием критерия Краскела–Уоллиса с апостериорным анализом по Данну. С целью выявления зависимости между показателями применяли коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Силу связи между показателями оценивали по шкале Чеддока, считая значения корреляции коэффициента: 0,1–0,3 –

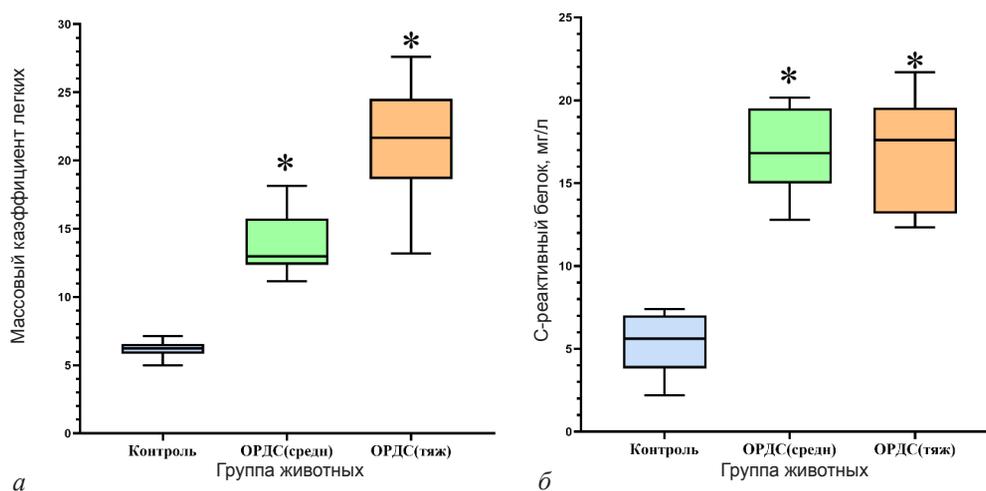


Рис. 1. Массовый коэффициент легких (а) и уровень С-реактивного белка в сыворотке крови (б) на 2-е сутки после моделирования у крыс ЛПС-индуцированного ОРДС различной степени тяжести. * – различия статистически значимы относительно группы контрольных животных ($p < 0,05$, критерий Краскела–Уоллиса)

Fig. 1. The mass coefficient of lungs (a) and the level of C-reactive protein in blood serum (b) on the 2nd day after modeling the LPS-induced ARDS of varying severity. * – the differences are statistically significant relative to the group of control animals ($p < 0.05$, Kruskal–Wallis test)

показатели слабой корреляции; 0,3–0,5 – показатели умеренной корреляции; 0,5–0,7 – показатели заметной корреляции; 0,7–0,9 – показатели высокой корреляции; 0,9–0,99 – показатели весьма высокой корреляции. Для оценки диагностической и прогностической значимости показателей выполняли ROC-анализ с расчетом площади под кривой (AUC), точек отсечения (пороговые значения), чувствительности и специфичности (программное обеспечение *MedCalc 20.103*, Бельгия). Разброс значений AUC представлен в виде 95 % доверительного интервала (95 ДИ). Вывод о статистической значимости различий между группами принимали при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

На 2-е сутки после в/т введения ЛПС у крыс отмечали развитие выраженного отека легких, о чем свидетельствовало увеличение МКЛ (рис. 1, а). В экспериментальной модели ОРДС(средн) исследуемый показатель был увеличен по отношению к контрольным животным в 2,03 раза, а при моделировании ОРДС(тяж) – уже в 3,39 раза ($p < 0,05$, критерий Краскела–Уоллиса). Для оценки степени выраженности системного воспалительного ответа на фоне экспериментального ОРДС определяли уровень СРБ, который традиционно используется в клинической практике как острофазный показатель, в особенности при диагностике инфекций нижних дыхательных путей [21]. В настоящей работе показано, что развитие отека легких у крыс сопровождалось увеличением уровня СРБ в сыворотке крови (рис. 1, б). Следует отметить, что степень увеличения содержания СРБ в сравнении с контрольными животными была одинакова как при ОРДС(средн), так и при ОРДС(тяж) и составила в среднем 3,14 раза ($p < 0,05$, критерий Краскела–Уоллиса).

Исследование периферической микроциркуляции методом компьютерной капилляроскопии околокогтевых валиков позволило выявить снижение скорости кровотока во всех отделах микроциркуляторного

русла у экспериментальных животных, однако статистическая значимость этих различий была определена только в артериальном отделе (АО), но не в венозном отделе (ВО) капилляров. Степень снижения скорости кровотока в АО была одинакова как при ОРДС(средн), так и при ОРДС(тяж) и составила в среднем 34,67 % в сравнении с контрольными значениями ($p < 0,05$, критерий Краскела–Уоллиса). Наряду с этим у экспериментальных животных была определена тенденция к спазму артериол и расширению венул, что было характерно для обеих моделей ОРДС. Так, вне зависимости от степени повреждения легких у крыс, диаметр сосудов в АО был снижен в среднем на 25,45 %, а в ВО был увеличен в среднем на 15,74 % ($p < 0,1$, критерий Краскелла–Уоллиса). Изменения показателей периферической микроциркуляции в экспериментальных моделях ОРДС у крыс, исследованные методом компьютерной капилляроскопии, приведены на рисунке 2.

При видеозаписи результатов компьютерной капилляроскопии у всех экспериментальных крыс (вне зависимости от тяжести повреждения легких) в большинстве визуализированных полей определяли формирование внутрисосудистых агрегатов и увеличение числа функционирующих капилляров, что отражено на рисунке 3.

В клинических исследованиях методом капилляроскопии ногтевого ложа выявлено, что на фоне COVID-19 у пациентов происходит снижение скорости кровотока в капиллярах, появление микроагрегатов и уменьшение количества перфузируемых капилляров в виде формирования аваскулярных зон [12]. Следует отметить, результаты капилляроскопии коррелировали с тяжестью течения COVID-19, а присоединение бактериальной инфекции приводило к еще большему усугублению нарушений микроциркуляции: увеличению периваскулярной зоны, прогрессии внутрисосудистой агрегации с исходом в микротромбоз с уменьшением плотности капиллярной сети [13]. Полученные в настоящей работе

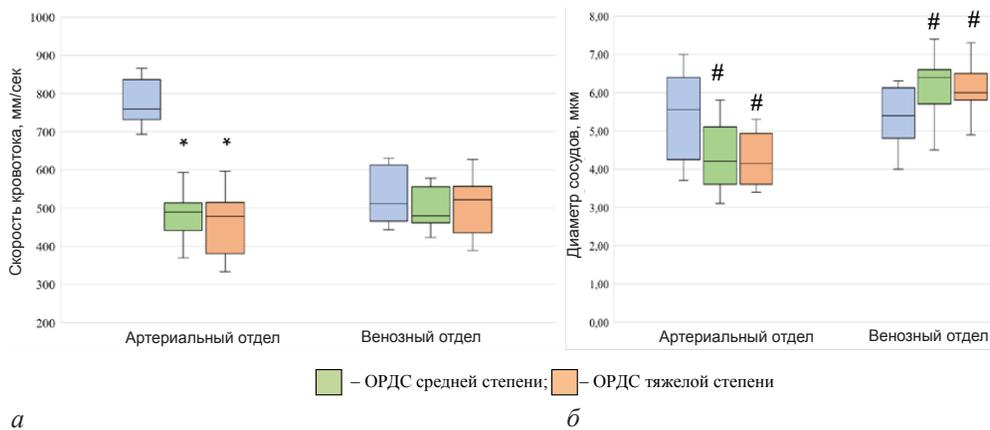


Рис. 2. Показатели компьютерной капилляроскопии на 2-е сутки после моделирования у крыс ЛПС-индуцированного ОРДС различной степени тяжести: *а* – скорость кровотока в капиллярах; *б* – диаметр сосудов. * – различия статистически значимы относительно группы контрольных животных ($p < 0,05$, критерий Краскела–Уоллиса); # – тенденция к статистически значимым различиям относительно группы контрольных животных ($p < 0,1$, критерий Краскела–Уоллиса)

Fig. 2. Indicators of computer capillaroscopy on the 2nd day after modeling the LPS-induced ARDS of varying severity: *a* – the speed of blood flow in the capillaries; *b* – the diameter of the vessels. * – the differences are statistically significant relative to the group of control animals ($p < 0.05$, Kruskal–Wallis test); # – a tendency to statistically significant differences relative to the group of control animals ($p < 0.1$, Kruskal–Wallis test)



Рис. 3. Микроскопическая картина капиллярной сети околокогтевых валиков крысы на 2-е сутки после моделирования ЛПС-индуцированного ОРДС различной степени тяжести: *а* – контроль; *б* – ОРДС средней степени; *в* – ОРДС тяжелой степени

Fig. 3. Microscopic picture of the capillary network of rat periarticular rollers on the 2nd day after modeling the LPS-induced ARDS of varying severity: *a* – control; *b* – moderate ARDS; *в* – severe ARDS

результаты капилляроскопии у крыс на фоне ОРДС согласуются с данными клинических исследований, однако взаимосвязи между тяжестью повреждения легких и степенью нарушений периферической микроциркуляции выявлено не было.

Результаты исследования гемореологических параметров у крыс на фоне ОРДС не показали различий в значениях вязкости, в то время как показатели гематокрита и предела текучести крови по отношению к контрольным величинам были изменены. Увеличение гематокрита на 15,02 % ($p < 0,05$, критерий Краскела–Уоллиса) регистрировали у крыс только в модели ОРДС(тяж). Предел текучести крови у экспериментальных животных, вне зависимости от формулы его расчета, был увеличен в модели ОРДС(средн) в среднем на 26,70 %, а в модели ОРДС(тяж) – в среднем на 61,36 % ($p < 0,05$, критерий Краскела–Уоллиса) (табл. 1).

Гемореологические изменения имеют большое значение в патогенезе любой патологии, сопровождающейся формированием системного воспалительного ответа, в том числе при ОРДС [22]. В настоящей работе показано увеличение предела текучести крови, который, как известно, отражает силы,

позволяющие преодолеть гомоагрегационные потенциалы, и служит показателем структурной прочности образующихся агрегатов в крови. Важно отметить, что с увеличением тяжести повреждения легких у крыс отмечали одновременное повышение и предела текучести крови. При ОРДС(тяж) регистрировали также увеличение гематокрита, свидетельствующее о гемоконцентрации и нарушении гемореологических свойств на фоне повышенного предела текучести. Выявленные изменения гемореологических показателей крови позволяют предположить, что на фоне прогрессирования ОРДС у крыс увеличивается структурная прочность внутрисосудистых агрегатов, визуализированных методом капилляроскопии.

Анализ показателей плазменного гемостаза у крыс позволил выявить, что моделирование ОРДС как средней, так и тяжелой степени не приводило к изменению АЧТВ, ПВ и ТВ в сравнении с контрольными величинами. В то же время обе экспериментальные модели ОРДС характеризовались увеличением уровня фибриногена и РФМК. Так, по отношению к контрольным значениям, при ОРДС(средн) и ОРДС(тяж) содержание фибриногена в плазме крови было увеличено в среднем на 80,12 %, а РФМК в

Таблица 1

Гемореологические показатели у крыс на 2-е сутки после моделирования ЛПС-индуцированного ОРДС различной степени тяжести, Me[Q1;Q3]

Table 1

Hemorheological indicators in rats on the 2nd day after modeling the LPS-induced ARDS of varying severity, Me[Q1;Q3]

Показатель	Экспериментальная группа		
	Контроль	ОРДС(средн)	ОРДС(тяж)
Вязкость, мПа*с	2,65 [2,61;2,73]	3,10 [2,82;3,13]	2,72 [2,57;2,91]
Гематокрит, %	35,60 [34,70;37,40]	35,90 [34,40;37,88]	40,95* [40,00;42,20]
Предел текучести (τ), дин/см ² (1)	0,20 [0,18;0,22]	0,25* [0,23;0,27]	0,31* [0,29;0,32]
Предел текучести (τ), дин/см ² (2)	1,211 [1,122;1,362]	1,555* [1,467;1,667]	2,031* [2,002;2,202]

Примечание: * – различия статистически значимы относительно группы контрольных животных ($p < 0,05$, критерий Краскела–Уоллиса).

Таблица 2

Показатели плазменного гемостаза у крыс на 2-е сутки после моделирования ЛПС-индуцированного ОРДС различной степени тяжести, Me[Q1;Q3]

Table 2

Indicators of plasma hemostasis in rats on the 2nd day after modeling the LPS-induced ARDS of varying severity, Me[Q1;Q3]

Показатель	Экспериментальная группа		
	Контроль	ОРДС(средн)	ОРДС(тяж)
АЧТВ, с	19,85 [18,88;20,90]	18,60 [18,05;19,35]	19,30 [18,75;22,55]
ПВ, с	28,30 [25,20;29,60]	28,00 [26,83;30,61]	29,6 [28,3;31,25]
ТВ, с	37,00 [34,40;40,90]	35,60 [31,80;37,98]	38,85 [36,93;40,78]
Фибриноген, г/л	3,32 [2,96;3,92]	5,80* [5,43;6,26]	6,16* [5,85;6,52]
Антитромбин, %	101,25 [98,75;101,55]	100,88 [99,30;101,79]	94,90* [93,80;95,05]
РФМК, г/л $\times 10^{-2}$	6,50 [5,63;7,00]	12,00* [10,00;16,00]	14,00* [12,00;16,50]

Примечание: * – различия статистически значимы относительно группы контрольных животных ($p < 0,05$, критерий Краскела–Уоллиса); * – тенденция к статистически значимым различиям относительно группы контрольных животных ($p < 0,1$, критерий Краскела–Уоллиса).

среднем на 100,00 % ($p < 0,05$, критерий Краскела–Уоллиса). Активность антитромбина изменялась только при тяжелом повреждении легких, что выражалось в тенденции к снижению исследуемого параметра на 6,27 % по отношению к контрольным животным ($p < 0,1$, критерий Краскела–Уоллиса). Результаты исследования показателей плазменного гемостаза в экспериментальных моделях ЛПС-индуцированного ОРДС различной степени тяжести приведены в таблице 2.

Известно, что ОРДС характеризуется выраженными изменениями в функциональном состоянии системы гемостаза, которые возникают вследствие системного воспалительного ответа, а также нарушения дыхательных функций легких [3, 23]. Повреждение эндотелия сосудов при ОРДС является определяющим событием в развитии гемостазиологических нарушений, которые проявляются в повышении прокоагулянтной активности крови, а также в угнетении систем фибринолиза и естественных антикоагулянтов [24]. В настоящей работе у крыс на фоне ОРДС средней и тяжелой степени наблюдали гиперфибриногемию и интенсификацию процессов внутрисосудистого свертывания, о чем свиде-

тельствовало увеличение уровня РФМК. Статистически незначимая депрессия системы естественных антикоагулянтов в виде снижения активности антитромбина была определена у животных при тяжелом повреждении легких.

С целью определения силы связи между показателем повреждения легких при ОРДС (оценено по МКЛ) и показателями, исследованными инструментальными и лабораторными методами, был проведен корреляционный анализ (табл. 3). Для этого все экспериментальные животные вне зависимости от тяжести ОРДС были объединены в одну группу.

Выявлено, что высокую силу связи с изменением МКЛ у крыс на фоне ОРДС имели показатели капилляроскопии ($r = -0,75$, $p < 0,05$, критерий Спирмена) и вискозиметрии ($r > 0,79$, $p < 0,05$, критерий Спирмена). Из лабораторных показателей высокую силу связи со значениями МКЛ на фоне ОРДС выявили у СРБ и РФМК ($r = 0,76$, $p < 0,05$, критерий Спирмена) и заметную силу связи – у фибриногена ($r = 0,69$, $p < 0,05$, критерий Спирмена). Активность антитромбина при этом имела статистически незначимую слабую корреляцию с показателями МКЛ ($r = -0,34$). Слабые, статистически

Значения коэффициентов корреляции между различными показателями у крыс на 2-е сутки после моделирования ЛПС-индуцированного ОРДС

Table 3

The values of the correlation coefficients between different indicators in rats on the 2nd day after modeling the LPS-induced ARDS

Показатель		МКЛ	СРБ, мг/л	Фибриноген, г/л	Антитромбин, %	РФМК, г/л×10 ⁻²	Ht, %
МКЛ		–	0,76*	0,69*	–0,34	0,76*	0,40*
Капилляроскопия	Скорость кровотока в АО, мм/с	–0,75*	–0,83*	–0,71*	0,28	–0,67*	–0,18
Вискозиметрия	Предел текучести (τ), дин/см ² (1)	0,81*	0,60*	0,50*	–0,29	0,54*	0,52*
	Предел текучести (τ), дин/см ² (2)	0,79*	0,64*	0,67*	–0,30	0,63*	0,65*

Примечание: * – различия статистически значимы (p<0,05, критерий Спирмена); МКЛ – массовый коэффициент легких; СРБ – С-реактивный белок; РФМК – растворимые фибрин-мономерные комплексы; Ht – гематокрит; АО – артериальный отдел капилляра.

Таблица 4

Показатели ROC-анализа у крыс в отношении развития повреждения легких на 2-е сутки после моделирования ЛПС-индуцированного ОРДС

Table 4

Indicators of ROC analysis in rats with respect to the development of lung damage on the 2nd day after modeling the LPS-induced ARDS

Показатель		Данные ROC-анализа				
		AUC	95 % ДИ	Точка отсечения	Чувствительность, %	Специфичность, %
Лабораторные	СРБ, мг/л	1,00*	0,87–1,00	>7,40	100,00	100,00
	Фибриноген, г/л	0,95*	0,79–1,00	>4,91	75,00	100,00
	Антитромбин, %	0,69	0,48–0,85	≤100,88	75,00	70,00
	РФМК, г/л×10 ⁻²	0,95*	0,79–1,00	>7,00	100,00	80,00
	Ht, %	0,67	0,46–0,84	>37,4	62,50	80,00
Капилляроскопия	Скорость кровотока в АО, мм/сек	1,00*	0,87–1,00	≤596,00	100,00	100,00
Вискозиметрия	Предел текучести, дин/см ² (1)	0,93*	0,76–0,99	>0,23	81,25	90,00
	Предел текучести, дин/см ² (2)	0,96*	0,81–1,00	>1,497	81,25	100,00

Примечание: * – различия статистически значимы (p<0,05, ROC-анализ); СРБ – С-реактивный белок; РФМК – растворимые фибрин-мономерные комплексы; Ht – гематокрит; АО – артериальный отдел капилляра.

незначимые корреляционные взаимодействия между активностью антитромбина у крыс были показаны также в отношении показателей капилляроскопии (r=0,28) и вискозиметрии (r<–0,29 и r<–0,30). При исследовании корреляционных взаимодействий между СРБ, фибриногеном, РФМК с показателями капилляроскопии и вискозиметрии на фоне экспериментального ОРДС показана, наоборот, заметная и высокая сила связи (p<0,05, критерий Спирмена).

Показатели гематокрита у экспериментальных крыс имели умеренную силу связи с МКЛ (r=0,40, p<0,05, критерий Спирмена) и заметную силу связи с показателями вискозиметрии (r>0,52, p<0,05, критерий Спирмена), в то время как с показателями капилляроскопии была определена статистически незначимая слабая корреляция (r=–0,18).

Оценку информативности исследованных показателей у крыс на фоне моделирования ОРДС проводили при помощи ROC-анализа. С целью определения диагностического потенциала исследованных параметров приведенные результаты ROC-анализа были выполнены на всей выборке экспериментальных животных вне зависимости от тяжести ОРДС (табл. 4).

По данным теста показано, что площадь под кривой (AUC) для показателей капилляроскопии и вискозиметрии была больше 0,9 (p<0,05), подтверждая адекватность использованной модели (AUC более 0,9 – отличная диагностическая информативность параметров). На фоне 100,00 % специфичности чувствительность показателей капилляроскопии составила также 100,00 %. Исследование результатов вискозиметрии позволило выявить, что при одинако-

Показатели ROC-анализа у крыс в отношении степени тяжести повреждения легких на 2-е сутки после моделирования ЛПС-индуцированного ОРДС

Table 5

Indicators of ROC analysis in rats with respect to the severity of lung damage on the 2nd day after modeling the LPS-induced ARDS

Показатель		Данные ROC-анализа				
		AUC	95 % ДИ	Точка отсечения	Чувствительность, %	Специфичность, %
Лабораторные	СРБ, мг/л	0,52	0,27–0,77	≤ 14,54	42,86	88,89
	Фибриноген, г/л	0,53	0,27–0,78	> 4,33	71,43	11,11
	Антитромбин, %	0,89*	0,63–0,99	≤ 98,01	100,00	77,78
	РФМК, г/л×10 ⁻²	0,58	0,31–0,82	> 10,00	85,71	33,33
	Ht, %	0,94*	0,70–1,00	> 37,4	100,00	77,78
Капилляроскопия	Скорость кровотока в АО, мм/с	0,54	0,28–0,79	≤ 345,80	28,57	100,00
Вискозиметрия	Предел текучести, дин/см ² (1)	0,87*	0,61–0,98	> 0,27	85,71	77,78
	Предел текучести, дин/см ² (2)	1,00*	0,79–1,00	> 1,778	100,00	100,00

Примечание: * – различия статистически значимы (p<0,05, ROC-анализ); СРБ – С-реактивный белок; РФМК – растворимые фибрин-мономерные комплексы; Ht – гематокрит; АО – артериальный отдел капилляра.

вой чувствительности (81,25 %) показатели предела текучести, рассчитанные по формуле (2), обладали несколько большей (на 10,00 %) специфичностью, чем вычисленные по формуле (1).

Из лабораторных показателей схожими характеристиками (AUC более 0,9 – отличная диагностическая информативность) обладали СРБ, фибриноген и РФМК (p<0,05). При 100,00 % специфичности чувствительность СРБ составила также 100,00 %, а фибриногена – 75,00 %. Специфичность РФМК была ниже и составила 80,00 %, но чувствительность при этом была равна 100,00 %. Слабую и статистически незначимую диагностическую информативность при моделировании ОРДС у крыс продемонстрировали активность антитромбина (AUC=0,62) и гематокрит (AUC=0,67).

На следующем этапе ROC-анализа была исследована возможность использования исследуемых показателей для определения тяжести течения ОРДС у крыс (табл. 5). Для этого все экспериментальные животные были снова разделены на группы: ОРДС(средн) и ОРДС(тяж).

По результатам проведенного ROC-анализа показано, что статистически значимые различия площади под кривой (AUC, p<0,05) были выявлены только для показателей вискозиметрии, активности антитромбина и гематокрита.

При исследовании показателей вискозиметрии расчет предела текучести по формуле (2) обладал наивысшей 100 % чувствительностью и 100 % специфичностью. Площадь под кривой (AUC) для этого параметра была больше 0,9 (p<0,05), показывая его отличную прогностическую способность.

Интересно отметить, что из лабораторных показателей статистически значимые различия площади под кривой (AUC, p<0,05) были определены только для активности антитромбина и гемато-

крита. Чувствительность (100,00 %) и специфичность (77,78 %) этих параметров были одинаковы, в то время как прогностическая способность антитромбина была умеренной (AUC больше 0,7; p<0,05), а гематокрита – отличной (AUC больше 0,9; p<0,05).

Заключение

В патогенезе ОРДС ведущую роль играют повреждение и изменение функционального состояния эндотелия, а также нарушения микроциркуляции, вызванные системным воспалительным ответом. Принимая во внимание стремительность развития дыхательной недостаточности и риск формирования СПОН, мониторинг периферической микроциркуляторной функции на ранних сроках ОРДС может иметь важное значение для определения тактики лечения и оценки прогноза этого жизнеугрожающего состояния.

В настоящем исследовании методом капилляроскопии околокогтевых валиков показаны нарушения микрососудистой перфузии на ранних сроках ОРДС у крыс, однако выявленные изменения микроциркуляции не коррелировали с тяжестью течения патологического процесса. Наряду с этим на фоне экспериментального ОРДС достаточным уровнем прогностической способности обладали показатели предела текучести крови, активности антитромбина и гематокрита.

Полученные результаты позволяют заключить, что показатели капиллярного кровотока в совокупности с гемореологическими и гемостазиологическими параметрами могут быть использованы при проведении доклинических исследований эффективности лекарственных средств, направленных на коррекцию системной дисфункции микроциркуляции, в том числе при экспериментальном ОРДС.

Конфликт интересов/ Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare that they have no conflicts of interest.

Литература / References

1. Ярошецкий А.И., Грицан А.И., Авдеев С.Н. и др. Диагностика и интенсивная терапия острого респираторного дистресс-синдрома // *Анестезиол. и реаниматол.* – 2020, – Т. 2. – С. 5–39. [Yaroshetskii AI, Gritsan AI, Avdeev SN et al. Diagnostics and intensive therapy of Acute Respiratory Distress Syndrome // *Russ J Anaesthesiol Reanimatol.* 2020;2:5–39. (In Russ.)]. Doi: 10.17116/anaesthesiology20200215.
2. Huppert LA, Matthay MA, Ware LB. Pathogenesis of Acute Respiratory Distress Syndrome // *Semin Respir Crit Care Med.* 2019;40(1):31–39. Doi: 10.1055/s-0039-1683996.
3. Livingstone SA, Wildi KS, Dalton HJ, Usman A, Ki KK, Passmore MR, Li Bassi G, Suen JY, Fraser JF. Coagulation Dysfunction in acute respiratory distress syndrome and its potential impact in inflammatory subphenotypes // *Front Med.* 2021;8:723217. Doi: 10.3389/fmed.2021.723217.
4. Tasaka S. Acute Respiratory Distress Syndrome. *Advances in Diagnostic Tools and Disease Management.* Springer; 2022:182. Doi: 10.1007/978-981-16-8371-8.
5. Deepak J, Puttaswamy R, Puttaswamy H. Non-respiratory functions of the lung // *Continuing Education in Anaesthesia Critical Care & Pain.* 2013;13(3):98–102.
6. Park BD, Faubel S. Acute Kidney Injury and Acute Respiratory Distress Syndrome // *Crit Care Clin.* 2021;37(4):835–849. Doi: 10.1016/j.ccc.2021.05.007.
7. Redko O, Dovgalyuk A, Dovbush A, Nebesna Z, Yakubyshyna L, Krynytska I. Liver injury associated with acute respiratory distress syndrome and the prospects of mesenchymal stem cells therapy for liver failure // *Cell Organ Transpl.* 2021;9(2):136–142. Doi: 10.22494/cot.v9i2.130.
8. Jayasimhan D, Foster S, Chang, CL, Hancock RJ. Cardiac biomarkers in acute respiratory distress syndrome: a systematic review and meta-analysis // *J Intensive Care.* 2021;9(36): Doi: 10.1186/s40560-021-00548-6.
9. Cui N, Jiang C, Chen H, Zhang L, Feng X. Prevalence, risk, and outcome of deep vein thrombosis in acute respiratory distress syndrome // *Thromb J.* 2021;19(1):71. Doi: 10.1186/s12959-021-00325-3.
10. Di Dedda U, Ascari A, Fantinato A, Fina D, Baryshnikova E, Ranucci M. Microcirculatory Alterations in Critically Ill Patients with COVID-19-Associated Acute Respiratory Distress Syndrome // *J Clin Med.* 2022;11(4):1032. Doi: 10.3390/jcm11041032.
11. Тургель В.А., Тульцева С.Н. Взаимосвязь основных показателей системной COVID-ассоциированной эндотелиопатии с морфофункциональным состоянием и гемодинамикой сетчатки и хориоидеи в острый период заболевания // *Офтальмол. ведомости.* – 2022. – Т. 15, № 3. – С. 7–17. [Turgel VA, Tultseva SN. Relationship of the main indicators of systemic COVID-associated endotheliopathy with the morphofunctional state and hemodynamics of the retina and chorioid in the acute period of the disease // *Ophthalmol Reports.* 2022;15(3):7–17. (In Russ.)]. Doi: 10.17816/OV110727.
12. Ладожская-Гапеенко Е.Е., Храпов К.Н., Полушин Ю.С. и др. Оценка состояния микроциркуляции у больных с тяжелым течением COVID-19 методом капилляроскопии ногтевого ложа // *Вестн. анестезиол. и реаниматол.* – 2021. – Т. 18, № 1. – С. 27–36. [Ladozhskaya-Gapeenko EE, Khrapov KN, Polushin YuS, Shlyk IV, Vartanova IV, Fionik AM, Danilova DM. Evaluation of microcirculation disorders in patients with severe COVID-19 by nail bed capillaroscopy // *Messenger of ANESTHESIOLOGY AND RESUSCITATION.* 2021;18(1):27–36. (In Russ.)]. Doi: 10.21292/2078-5658-2021-18-1-27-36.
13. Ладожская-Гапеенко Е.Е., Храпов К.Н., Петрищев Н.Н. и др. Нарушения микроциркуляции у больных с тяжелым течением COVID-19, осложненным бактериальным сепсисом // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция.* – 2021. – Т. 20, № 4. – С. 52–61. [Ladozhskaya-Gapeenko EE, Khrapov KN, Petrishchev NN, Polushin YuS, Shlyk IV. Microcirculation disorders in patients with severe COVID-19 and development of bacterial sepsis // *Regional blood circulation and microcirculation.* 2021;20(4):52–61. (In Russ.)]. Doi: 10.24884/1682-6655-2021-20-4-52-61.
14. Ладожская-Гапеенко Е.Е., Храпов К.Н., Полушин Ю.С. и др. Нарушения микроциркуляции у больных с тяжелым течением COVID-19 // *Вестн. анестезиол. и реаниматол.* – 2021. – Т. 18, № 4. – С. 7–19. [Ladozhskaya-Gapeenko EE, Khrapov KN, Polushin YuS, Shlyk IV, Petrishchev NN, Vartanova IV. Microcirculation Disorders in Patients with Severe COVID-19 // *Messenger Anesthesiol Resuscitation.* 2021;18(4):7–19. (In Russ.)]. Doi: 10.21292/2078-5658-2021-18-4-7-19.
15. Фабрикантов О.Л., Проничкина М.М. Капилляроскопические параметры микроциркуляции ногтевого ложа (обзор литературы) // *Сиб. научн. мед. журн.* – 2018. – Т. 38, № 2. – С. 62–67. [Fabrikantov OL, Pronichkina MM. Capillaroscopy parameters of the nailfold microcirculation (review) // *Siberian Scient Med J.* 2018;38(2):62–67. (In Russ.)]. Doi: 10.15372/SSMJ20180210.
16. Çakmak F, Demirbuga A, Demirkol D, Gümüş S, Torun SH, Kayaalp GK, Ömeroglu RE, Somer A, Uysalol M, Yildiz R, Ayaz NA. Nailfold capillaroscopy: A sensitive method for evaluating microvascular involvement in children with SARS-CoV-2 infection // *Microvasc Res.* 2021;138:104196. Doi: 10.1016/j.mvr.2021.104196.
17. Пугач В.А., Тюнин М.А., Ильинский Н.С. и др. Экспериментальная модель прямого острого повреждения легких у крыс, вызванного интратрахеальным введением липополисахарида *Salmonella enterica* // *Биомедицина.* – 2021. – Т. 17, № 3. – С. 84–89. [Pugach VA, Tyunin MA, Pinskiy NS, Levchuk EV, Strokina EI, Eltsov AA. An Experimental Model of Direct Acute Lung Injury in Rats Caused by Intratracheal Administration of Lipopolysaccharide from *Salmonella enterica* // *J Biomed.* 2021;17(3):84–89. (In Russ.)]. Doi: 10.33647/2074-5982-17-3-84-89.
18. Волошин Н.И., Пугач В.А., Тюнин М.А. и др. Клинико-биохимические и патоморфологические особенности прямого острого повреждения легких у крыс, вызванного интратрахеальным введением липополисахарида *Salmonella enterica* // *Лабораторные животные для научн. иссл.* – 2022. – Т. 3. – С. 16–23. [Voloshin NI, Pugach VA, Tyunin MA, Strokina EI, Hizha VV, Nikolaev AV, Salukhov VV. Clinical, biochemical and pathomorphological features of direct acute lung injury in rats caused by intratracheal administration of *Salmonella enterica* lipopolysaccharide // *Laboratory Animals for Science.* 2022;3:16–23. (In Russ.)]. Doi: 10.57034/2618723X-2022-03-02.
19. Apostolidis AJ, Beris AN. Modeling of the blood rheology in steady-state shear flows // *J Rheol.* 2014;58(3):607–633.
20. Chandran K, Rittgers S, Yoganathan A. *Biofluid Mechanics.* 2nd ed. Boca Raton, CRC Press, 2012:432.
21. Андреева Е.А. С-реактивный белок в оценке пациентов с респираторными симптомами до и в период пандемии COVID-19 // *PMЖ.* – 2021. – Т. 29, № 6. – С. 14–17. [Andreeva EA. S-reaktivnyy belok v otsenke patsiyentov s respiratornymi simptomami do i v period pandemii COVID-19 // *RMZH.* 2021;29(6):14–17. (In Russ.)].

22. Waksman O, Choi D, Mar P, Chen Q, Cho D, Kim H, Smith R, Goonewardena S, Rosensen R. Association of blood viscosity and device-free days among hospitalized patients with COVID-19 // *J Intensive Care*. 2023;11(1):17. Doi: 10.1186/s40560-023-00665-4.

23. Camprubi-Rimblas M, Tantinyà N, Bringué J, Guillaumat-Prats R, Artigas A. Anticoagulant therapy in acute respiratory distress syndrome // *Ann Transl Med*. 2018;6(2):36. Doi: 10.21037/atm.2018.01.08.

24. Millar FR, Summers C, Griffiths MJ, Toshner MR, Proudfoot AG. The pulmonary endothelium in acute respiratory distress syndrome: insights and therapeutic opportunities // *Thorax*. 2016;71(5):462–473. Doi: 10.1136/thoraxjnl-2015-207461.

Информация об авторах

Пугач Виктория Александровна – канд. биол. наук, старший научный сотрудник ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» МО РФ, Санкт-Петербург, Россия; доцент кафедры патофизиологии с курсом клинической патофизиологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: gniiivm_7@mil.ru.

Чефу Светлана Григорьевна – канд. биол. наук, зав. лабораторией экспериментальных исследований центра лазерной медицины Научно-образовательного института биомедицины, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: lasmed@yandex.ru.

Тюнин Михаил Александрович – канд. мед. наук, заместитель начальника центра, ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» МО РФ, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: gniiivm_7@mil.ru.

Строкина Елена Игоревна – научный сотрудник, ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» МО РФ, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: gniiivm_7@mil.ru.

Файзуллина Динара Рафаэлевна – ассистент кафедры патофизиологии с курсом клинической патофизиологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» МЗ РФ, e-mail: lasmed@yandex.ru.

Петришев Николай Николаевич – д-р мед. наук, профессор, руководитель центра лазерной медицины Научно-образовательного института биомедицины, профессор кафедры патофизиологии с курсом клинической патофизиологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: lasmed@yandex.ru.

Authors information

Pugach Victoria A. – Candidate of Sciences (PhD) in Biology, Senior Researcher, State Scientific Research Testing Institute of Military Medicine, Russia, St. Petersburg; Associate Professor of the Department of Pathophysiology with a course of clinical pathophysiology, Pavlov University, Saint Petersburg, Russia, e-mail: gniiivm_7@mil.ru.

Chefu Svetlana G. – Candidate of Sciences (PhD) in Biology, Head, Laboratory for Experimental Research, Center for Laser Medicine, Scientific and Educational Institute of Biomedicine, Pavlov University, Saint Petersburg, Russia, e-mail: lasmed@yandex.ru.

Tyunin Michael A. – Candidate of Sciences (PhD) in Medicine, Deputy Head, Center, State Scientific Research Testing Institute of Military Medicine, Saint Petersburg, Russia, e-mail: gniiivm_7@mil.ru.

Strokina Elena I. – Researcher, State Scientific Research Testing Institute of Military Medicine, Saint Petersburg, Russia, e-mail: gniiivm_7@mil.ru.

Faizullina Dinara R. – Assistant of the Department of Pathophysiology with a course of clinical pathophysiology, Pavlov University, Saint Petersburg, Russia, e-mail: lasmed@yandex.ru.

Petrishchev Nikolai N. – Dr. Med. Sci., Professor, Head, Center for Laser Medicine, Scientific and Educational Institute of Biomedicine; Professor, Department of Pathophysiology, Pavlov University, Saint Petersburg, Russia, e-mail: lasmed@yandex.ru.