

Влияние доставки оксида азота на морфофункциональное состояние легких при моделировании искусственного кровообращения: экспериментальное исследование

И.В.Кравченко¹ ✉, Е.А.Геренг², Ю.К.Подоксенов¹, М.А.Тё¹, О.Н.Серебрякова², М.А.Бянкина², А.В.Горохова², Б.Н.Козлов¹, И.В.Мильто², Н.О.Каменщиков¹

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»: 634012, Россия, Томск, ул. Киевская, 111А

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации: 634050, Россия, Томск, Московский тракт, 2

Резюме

Периоперационный период кардиохирургических операций ассоциирован со значительным нарушением морфофункционального состояния легких, наибольший вклад в реализацию которого вносит применение искусственного кровообращения (ИК). Патофизиология ИК связана с ишемически-реперфузионным повреждением, окислительным стрессом и системным воспалением. Оксид азота (NO) способен ограничивать повреждающее действие этих процессов. **Целью** исследования явилось изучение влияния доставки NO на морфофункциональное состояние легких экспериментальных животных при моделировании ИК. **Материалы и методы.** Исследование проводилось на баранах алтайской породы ($n = 12$). Животные были распределены на равные 2 группы. Баранам группы «ИК» проводилось моделирование искусственной вентиляции легких (ИВЛ) и ИК согласно стандартному, принятому в клинике протоколу. Баранам группы «ИК + NO» во время ИВЛ и ИК выполнялась доставка 80 ppm NO (через дыхательный контур аппарата ИВЛ и контур аппарата ИК), которая начиналась сразу после интубации трахеи и продолжалась до окончания эксперимента. В обеих группах время ИК составляло 90 мин, после чего бараны были переведены на спонтанное кровообращение и наблюдались в течение последующих 60 мин. В дальнейшем производился забор крови, животные выводились из эксперимента с последующим взятием гистологического материала. **Результаты.** Выявлены статистически значимые межгрупповые различия показателей P / F-индекса (соотношение показателей парциального давления кислорода в альвеолах и фракции кислорода во вдыхаемой газовой смеси) перед окончанием эксперимента ($p = 0,041$). Доставка NO была ассоциирована со снижением плотности инфильтрата в паренхиме легких ($p = 0,006$) и увеличением площади альвеол ($p < 0,001$). **Заключение.** При доставке NO в случае моделирования ИК у экспериментальных животных улучшается морфологическое и функциональное состояние легких, что реализуется в виде снижения воспалительных, сосудистых изменений и повреждения респираторного отдела легких (структуры альвеол, альвеолярных ходов и пневмоцитов). Требуется проведение клинических исследований, направленных на изучение пульмопротективных свойств NO.

Ключевые слова: оксид азота (NO), искусственное кровообращение, легкие, легочные осложнения, пульмопротекция.

Конфликт интересов. Конфликт интересов авторами не заявлен.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного задания по теме фундаментальных научных исследований № 122123000017-3.

Этическая экспертиза. Исследование проводилось в соответствии с принципами Директивы Европейского совета 86/609/ЕЕС. Исследование одобрено Локальным этическим комитетом Научно-исследовательского института кардиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (протокол № 230 от 28.06.22).

© Кравченко И.В. и соавт., 2024

Для цитирования: Кравченко И.В., Геренг Е.А., Подоксенов Ю.К., Тё М.А., Серебрякова О.Н., Бянкина М.А., Горохова А.В., Козлов Б.Н., Мильто И.В., Каменщиков Н.О. Влияние доставки оксида азота на морфофункциональное состояние легких при моделировании искусственного кровообращения: экспериментальное исследование. *Пульмонология*. 2024; 34 (3): 385–394. DOI: 10.18093/0869-0189-2024-34-3-385-394

Effect of nitric oxide supply on the morphofunctional state of the lungs during cardiopulmonary bypass modelling: an experimental study

Igor V. Kravchenko¹ ✉, Elena A. Gereng², Yuri K. Podoksenov¹, Mark A. Tyo¹, Olga N. Serebryakova², Maria A. Byankina², Anna V. Gorokhova², Boris N. Kozlov¹, Ivan V. Milto², Nikolay O. Kamenshchikov¹

¹ Federal State Budgetary Scientific Institution “Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences”: ul. Kievskaya 111A, Tomsk, 634012, Russia

² Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Siberian State Medical University” of the Ministry of Health of the Russian Federation: Moskovskiy trakt 2, Tomsk, 634050, Russia

Abstract

Perioperative management of cardiac surgery leads to significant morphofunctional impairment of the lungs, cardiopulmonary bypass (CPB) being the principal contributor. The pathophysiological mechanisms associated with cardiopulmonary bypass include ischaemic-reperfusion injury, oxidative stress and systemic inflammation. Nitric oxide is able to limit the associated damage. **Aim** of the study: to investigate the effect of nitric oxide supply on morphofunctional state of sheep lungs under simulated cardiopulmonary bypass. **Methods.** 12 sheep of Altai breed were divided into 2 equal groups. Classical techniques of pulmonary ventilation and cardiopulmonary bypass were simulated in the CPB group. The sheep of the CPB + NO group were supplied with 80 ppm nitric oxide (via respiratory circuit or extracorporeal circulation circuit) during mechanical ventilation and cardiopulmonary bypass. The gas supply started immediately after tracheal intubation and continued until the end of the experiment. In both groups, the cardiopulmonary bypass time was 90 min, after which the sheep were switched to spontaneous circulation and observed for 60 min. Subsequently, blood was sampled, and the animals were withdrawn from the experiment with subsequent collection of histologic specimens. **Results.** Statistically significant intergroup differences in P / F-index level before the end of the experiment were found ($p = 0.041$). Nitric oxide supply was associated with decreased infiltrate density in the lung parenchyma ($p = 0.006$) and increased alveolar area ($p < 0.001$). **Conclusion.** Supply of NO during modelling of cardiopulmonary bypass in experimental animals improves the morphological and functional state of the lungs by reducing inflammation, vascular changes and damage to the respiratory part of the lungs (structure of alveoli, alveolar passages and pneumocytes). Clinical studies are needed to investigate pulmonoprotective properties of NO in humans.

Key words: nitric oxide, NO, cardiopulmonary bypass, CPB, lungs, pulmonary complications, pulmonary protection.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Funding. This research was carried out under the state assignment for fundamental scientific research No.12212300017-3.

Ethical review. The study was carried out in accordance with the principles of European Council Directive 86/609/EEC. The study was approved by the Local Ethics Committee of the Research Institute of Cardiology of the Federal State Budgetary Scientific Institution "Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences" (protocol No.230 dated 28.06.22).

© Kravchenko I.V. et al., 2024

For citation: Kravchenko I.V., Gereng E.A., Podoksenov Yu.K., Tyo M.A., Serebryakova O.N., Byankina M.A., Gorokhova A.V., Kozlov B.N., Milto I.V., Kamenschikov N.O. Effect of nitric oxide supply on the morphofunctional state of the lungs during cardiopulmonary bypass modelling: an experimental study. *Pul'monologiya*. 2024; 34 (3): 385–394 (in Russian). DOI: 10.18093/0869-0189-2024-34-3-385-394

Органная дисфункция, в частности легочная, является частым осложнением кардиохирургических операций. В течение 1 нед. после операции примерно у 25 % пациентов наблюдаются значительные нарушения функции внешнего дыхания [1]. Несмотря на совершенствование методов искусственного кровообращения (ИК) и периоперационной интенсивной терапии легочная дисфункция по-прежнему остается частым и серьезным осложнением кардиохирургических операций, приводящим к повышению общей заболеваемости и смертности [2, 3].

Наиболее значимыми факторами периоперационного повреждения легочной ткани и связанного с ними нарушения функции органа являются применение ИК и связанное с этим ишемически-реперфузионное повреждение (ИРП) [4]. Легкие одновременно кровоснабжаются из 2 источников – бронхиальных и легочной артерий, однако кровоток из бронхиальных артерий обеспечивает лишь 3–5 % легочного кровотока [5]. При прекращении как перфузии, так и вентиляции легкие подвержены ИРП [6]. Во время ИК перфузия легочной артерии прекращается и метаболическое обеспечение легких полностью зависит от поступления крови из бронхиальных артерий [7]. Выключение легких из системного кровообращения приводит к значительному снижению уровня аденозинтрифосфата (АТФ) в ткани легкого [8], дисфункции АТФ-зависимых ионных насосов, перегрузке митохондрий кальцием [9], повышению проницаемости митохондриальной поры, набуханию и разрыву органеллы [10]. Реперфузия характеризуется массивной генерацией активных форм кислорода (АФК) [11], перекисным окислением белков, липидов и ДНК [12]. АФК активируют альвеолярные макрофаги, которые высвобождают провоспалительные цитокины [13] и вовлекают в процесс нейтрофилы [13]. Активированные лейкоциты перемещаются во внесосудистое

пространство [14], увеличивают проницаемость сосудистой стенки [15], вызывают тромбоз, отек и гибель паренхиматозных клеток посредством выработки протеаз, эластаз и АФК [16]. Воспалительная реакция приводит к агрегации тромбоцитов, микротромбозу, вазоконстрикции [9] и усугублению отека паренхимы легких [17]. Результатом ИРП является повышение проницаемости альвеолярно-капиллярной мембраны, развитие некардиогенного отека легких, нарушение вентиляционно-перфузионного соотношения (V/Q) [18] и повышение фракции шунта в легких [19]. Эта патофизиологическая цепочка приводит к гипоксемии [20], а с учетом нарушения выработки сурфактанта – и снижению комплаентности легких [21]. Из-за ИРП-опосредованной вазоконстрикции в малом круге кровообращения значительно повышается легочное сосудистое сопротивление [22], что усугубляет отек легких [23].

Крайне перспективным методом пульмонопротекции в кардиохирургии является периоперационная доставка оксида азота (NO). NO применяется как легочный вазодилататор, при его доставке отмечается улучшение V/Q , оксигенации и снижение постнагрузки правого желудочка [24]. NO обладает бронходилатирующим эффектом [25], при этом снижается сопротивление дыхательных путей, улучшается вентиляция легких, что позволяет не только оптимизировать V/Q , но и уменьшить синтез провоспалительных цитокинов [26], ингибировать адгезию, миграцию нейтрофилов и моноцитов в ткань за счет уменьшения количества поверхностных молекул адгезии, ограничить секвестрацию нейтрофилов [27] и агрегацию тромбоцитов [24]. NO ингибирует перекисное окисление липидов, а также может напрямую поглощать АФК [24].

К настоящему времени накоплено значительное количество экспериментальных и клинических дан-

ных об органопротективных эффектах NO в кардиохирургии [28]. Текущая парадигма применения NO предполагает его использование только для симптоматической терапии легочной гипертензии и критической гипоксемии, однако биологические эффекты данной молекулы более многогранны. Задачей данного экспериментального исследования явилось более глубокое изучение пульмонопротективных свойств NO, которые к настоящему моменту изучены недостаточно.

Целью исследования явилось изучение влияния доставки NO на морфофункциональное состояние легких экспериментальных животных при моделировании ИК.

Материалы и методы

В проспективное рандомизированное экспериментальное исследование были включены бараны ($n = 12$) алтайской породы массой тела 30–34 кг. Животные содержались в условиях конвенционального вивария. Методом конвертов бараны случайным образом были распределены на 2 равные группы. Животным группы «ИК» проводились ИВЛ и ИК по стандартной методике. Бараны группы «ИК + NO» дополнительно получали NO (80 ppm) через контур аппарата ИВЛ и контур экстракорпоральной циркуляции, доставка которого начиналась сразу после интубации трахеи и продолжалась до окончания эксперимента. Все манипуляции с животными проводились в соответствии с принципами Директивы Европейского совета 86/609/ЕЭС. Проведение исследования одобрено Локальным этическим комитетом Научно-исследовательского института кардиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (протокол № 230 от 28.06.22).

Методика моделирования искусственного кровообращения

Исходно животным производилась седация с помощью ингаляции севофлурана. После подготовки (бритье, обработка антисептическим средством) у баранов налаживался мониторинг (электрокардиография (ЭКГ), пульсоксиметрия) и производилась катетеризация большой подкожной вены задней конечности (катетер 18G). В качестве премедикации вводились хлоропирамин 20 мг и атропина сульфат 0,5 мг. Индукция анестезии производилась посредством дробного введения пропофола 5 мг / кг; на фоне спонтанного дыхания в условиях прямой ларингоскопии выполнялась оротрахеальная интубация трубкой 6,5 мм. ИВЛ проводилась в режиме контроля над объемом (*volume control ventilation*), концентрация кислорода в газовой смеси составляла 50 %, дыхательный объем — 8 мл / кг, положительное давление в конце выдоха — 5 см вод. ст., частота дыхания — 20 в минуту. Для поддержания анестезии проводилась инфузия пропофола 5 мг / кг / ч. Нейромышечная блокада обеспечивалась

введением пипекурония бромидом 0,1 мг / кг. Во время анестезии проводился расширенный мониторинг витальных функций (мониторинг ЭКГ, инвазивный мониторинг артериального давления (АД)), пульсоксиметрия, капнография и термометрия. Для инвазивного мониторинга АД и забора проб крови хирургическим путем выполнялась катетеризация общей сонной артерии. Для введения лекарственных средств и забора проб крови хирургическим путем выполнялась катетеризация внутренней яремной вены.

Хирургический доступ осуществлялся посредством торакотомии в IV–V межреберье справа. Для обеспечения антикоагуляции использовался гепарин в дозе 3 мг / кг, время активированного свертывания поддерживалось > 450 с. Аппарат ИК подключался по схеме «аорта — верхняя полая вена — нижняя полая вена», при этом пережатие аорты, наложение турникетов на полевые вены и кардиоплегия не выполнялись. ИК проводилось в нормотермических условиях и неппульсирующем режиме, индекс перфузии составлял 2 л / мин / м², площадь поверхности тела барана считалась равной 1,1 м². Среднее АД во время ИК поддерживалось на уровне 70 мм рт. ст., для чего при необходимости производилась инфузия норэпинефрина 0,05–0,2 мкг / кг / мин.

У баранов обеих групп для проведения ИВЛ и ИК использовались модифицированные контуры, позволяющие проводить доставку NO и мониторировать концентрацию NO и диоксида азота (NO₂) в газовой смеси.

Суммарная продолжительность ИК в обеих группах составила 90 мин, после чего животные отлучались от ИК и наблюдались в течение 60 мин. По истечении данного срока животные выводились из эксперимента и производилось взятие гистологического материала.

Доставка оксида азота

Доставка NO начиналась сразу после интубации трахеи и осуществлялась через модифицированный дыхательный контур. В начале ИК NO подавался через модифицированный экстракорпоральный контур, а после его окончания — снова через модифицированный контур аппарата ИВЛ в течение 60 мин (до окончания эксперимента).

Источником газа являлся сертифицированный прибор, синтезирующий NO из атмосферного воздуха непосредственно во время проведения NO-терапии, с блоком мониторинга уровня NO и NO₂.

Для доставки NO через контур аппарата ИВЛ в инспираторную часть дыхательного контура были встроены переходник с разъемом Люэра, к которому подключалась магистраль подачи газа, фильтр с натронной известью для сорбции NO₂. Непосредственно перед интубационной трубкой был предусмотрен еще один переходник с разъемом Люэра для подключения газоанализатора и контроля над уровнем NO и NO₂. Доза NO выставлялась в зависимости от потока газовой смеси в дыхательном контуре таким образом, чтобы концентрация вдыхаемого NO составляла 80 ppm.

Доставка NO в контур экстракорпоральной циркуляции проводилась посредством вставки двух переходников $\frac{1}{4}$ – $\frac{1}{4}$ с разъемом Люэра в газовоздушную магистраль между смесителем газов и оксигенатором. В проксимальный из них подключалась магистраль подачи NO, дистальный располагался как можно ближе к оксигенатору и предназначался для подключения газоанализатора, позволяющего контролировать уровень NO и NO₂. Доза NO выставлялась в зависимости от потока воздушной смеси так, чтобы концентрация NO составляла 80 ppm.

Во время NO-терапии осуществлялся непрерывный контроль над уровнем NO и NO₂ в газовой смеси. Контроль и поддержание уровня NO₂ регламентировался ≤ 2 ppm. Уровень метгемоглобина непрерывно контролировался с помощью периферического пульсоксиметра с возможностью измерения фракционной сатурации (неинвазивная кооксиметрия) и поддерживался на уровне, не превышающем 5 %.

Обработка гистологического материала легких

Для гистологического исследования кусочки ткани легких фиксировались в течение 24 ч в забуференном формалине по стандартной методике и заливались в парафиновую смесь. Гистологические срезы готовились на автоматическом микротоме *Thermo HM 355S*. Полученные срезы (толщиной 3–5 мкм) окрашивались гематоксилином и эозином, изучались с использованием бинокулярного светового микроскопа *Axioskop 40 (Carl Zeiss, Германия)*. При обзорной световой микроскопии гистологических препаратов легких экспериментальных животных оценивалось наличие гемодинамических нарушений (венозное полнокровие, стаз, тромбоз, диапедез эритроцитов), воспалительных и структурных изменений. Морфометрический анализ микрофотографий проводился с использованием программ *AxioVision 4.8* и *Image 1.52*. При морфометрическом исследовании рассчитывались следующие параметры: диаметр сосудов, мелких, терминальных и респираторных бронхиол (мкм), площадь альвеол (%) и плотность клеточного инфильтрата в 1 мм² среза.

Конечные точки эксперимента

Конечными точками эксперимента явились P / F-индекс (соотношение показателей парциального давления кислорода в альвеолах и фракции кислорода во вдыхаемой газовой смеси) перед окончанием эксперимента и его динамика, комплаенс легких перед окончанием эксперимента и его динамика, гистологические признаки острого легочного повреждения, плотность инфильтрата в паренхиме легких, диаметр сосудов микроциркуляторного русла, диаметр мелких бронхов, терминальных и респираторных бронхиол, площадь альвеол.

Статистический анализ

Материалы исследования подвергались статистической обработке с использованием методов непара-

метрического анализа. Накопление, корректировка, систематизация исходной информации и визуализация полученных результатов осуществлялись в электронных таблицах *Microsoft Office Excel (2016)*. Статистический анализ проводился с использованием программы *IBM SPSS Statistics v. 27* (разработчик – *IBM Corporation*).

Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критерия Шапиро–Уилка или критерия Колмогорова–Смирнова. Совокупности количественных показателей описывались при помощи значений медианы (*Me*) и нижнего и верхнего квартилей (*IQR*). Для сравнения независимых совокупностей использовался U-критерий Манна–Уитни. Для проверки различий между двумя сравниваемыми парными выборками применялся W-критерий Уилкоксона. Критический уровень статистической значимости при проверке гипотез составлял 0,05.

Результаты

Оксигенирующая функция легких и механика аппарата внешнего дыхания

Величина P / F-индекса после интубации трахеи составляла 430 (384; 466) и 425 (390; 440) в группах «ИК + NO» и «ИК» соответственно и значимо не различалась ($p = 0,699$). Перед окончанием эксперимента показатель был статистически значимо выше в группе «ИК + NO» (331 (316; 340)) в сравнении с группой «ИК» (302 (294; 318)) ($p = 0,041$). При этом выявлено статистически значимое снижение показателя в обеих группах в ходе эксперимента ($p = 0,028$ в обеих группах; рис. 1, табл. 1).

После интубации трахеи значимых межгрупповых различий в величине комплаенса ($p = 0,394$) и перед окончанием эксперимента ($p = 0,18$) не выявлено, однако отмечено его значимое снижение в обеих группах в ходе эксперимента ($p = 0,028$ в обеих группах) (см. табл. 1).

Описательная морфология

В гистологических препаратах легких у баранов группы «ИК» наблюдались признаки венозного полнокровия, лейкостаза, деструкции и десквамации эндотелиоцитов, периваскулярного и интерстициального отека (рис. 2).

В капиллярах отмечались признаки сладжа, стаза и тромбоза, нередко наблюдался диапедез эритроцитов (рис. 3).

В мелких бронхах животных группы «ИК» реснитчатые эпителиоциты уплощены, с признаками дистрофии (мелкое пикнотичное ядро, пенистая структура цитоплазмы, мелкие базофильные гранулы в ней), нередко с признаками десквамации и деструкции. Бокаловидные экзокриноциты – нередко с признаками гиперсекреции (см. рис. 2, 4).

Достаточно часто в этих бронхах визуализируются субэпителиальный отек, периваскулярная и пери-

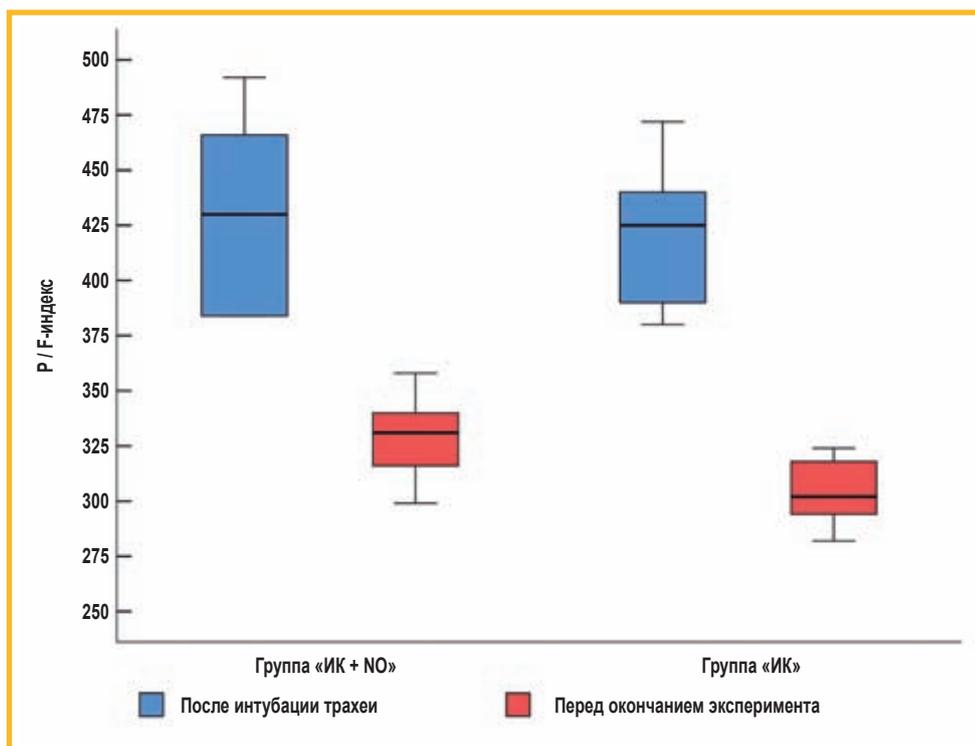


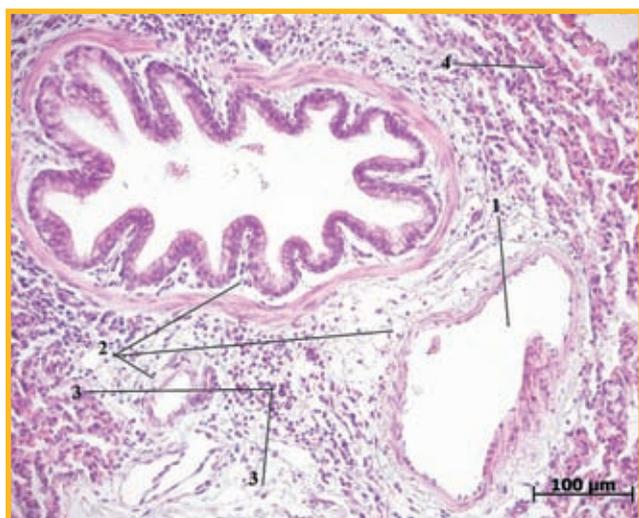
Рис. 1. Показатель P / F-индекса на этапах исследования
Примечание: P / F-индекс – соотношение показателей парциального давления кислорода в альвеолах и фракции кислорода во вдыхаемой газовой смеси
Figure 1. P / F-index at two stages of the study

Таблица 1
Оксигенирующая функция легких и механика аппарата внешнего дыхания; Me (IQR)

Table 1
Lung oxygenation function and mechanics of external respiration; Me (IQR)

Показатель	Группа		p
	«ИК + NO»	«ИК»	
P / F-индекс:			
• после интубации трахеи	430 (384; 466)	425 (390; 440)	0,699
• перед окончанием эксперимента	331 (316; 340)	302 (294; 318)	0,041
p	0,028	0,028	
Комплаенс, мл / см вод. ст.			
• после интубации трахеи	16,3 (15,5; 18,5)	15,7 (15,4; 16)	0,394
• перед окончанием эксперимента	15,1 (13,6; 16)	13,8 (13,3; 14,9)	0,180
p	0,028	0,028	

Примечание: Me – медиана; IQR (InterQuartile Range) – интерквартильный размах; ИК – искусственное кровообращение; NO – оксид азота.



гланулярная лимфоцитарно-плазмоцитарная инфильтрация, нередко можно обнаружить расширение и деформацию концевых отделов белково-слизистых желез, мукоциты с признаками гиперсекреции. В мелких бронхах и терминальных бронхиолах наблюдается выраженное расширение просвета, нередко – бронхоэктазы. На некоторых гистологических препаратах в респираторном отделе легкого наблюдаются признаки эмфиземы (респираторные бронхиолы расширены,

Рис. 2. Гистологический препарат фрагмента легкого барана группы искусственного кровообращения: выраженное расширение просвета венул (1), периваскулярные и перибронхиальные отеки (2), диффузный лимфоплазматический инфильтрат (3), диапезис эритроцитов (4); окраска гематоксилином-эозином

Figure 2. Histological specimen of a ram lung fragment from the cardiopulmonary bypass group. Prominent dilatation of venules lumen (1), perivascular and peribronchial oedema (2), diffuse lymphoplasmocytic infiltrate (3), erythrocyte diapedesis (4). Haematoxylin-eosin staining



Рис. 3. Гистологический препарат фрагмента легкого барана группы искусственного кровообращения: выраженное расширение просвета венул, плазмостаз (1), стаз и сладж эритроцитов (1, 2), расширение просвета терминальных бронхиол (3); окраска гематоксилином-эозином

Figure 3. Histological specimen of a ram lung fragment from the cardiopulmonary bypass group. Prominent dilatation of venule lumens, plasmostasis (1), stasis and sludge of erythrocytes (1, 2), dilatation of lumens of terminal bronchioles (3). Haematoxylin-eosin staining

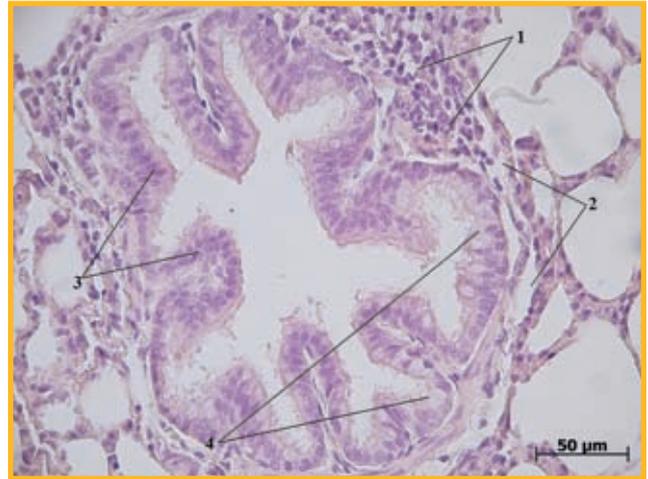


Рис. 4. Гистологический препарат фрагмента легкого барана группы искусственного кровообращения: перибронхиальный отек, лимфоплазмочитарная инфильтрация (1, 2), дистрофические изменения в реснитчатых эпителиоцитах клеток (3), гиперсекреция бокаловидных клеток (4); окраска гематоксилином-эозином

Figure 4. Histologic specimen of a ram lung fragment from the cardiopulmonary bypass group. Peribronchial oedema, lymphoplasmocytic infiltration (1, 2), dystrophic changes in ciliated epitheliocyte cells (3), hypersecretion of goblet cells (4). Haematoxylin-eosin staining

альвеолярные ходы деформированы, отмечались разрывы межальвеолярных перегородок) (рис. 5). Ацинусы значительно изменены: в некоторых участках за счет выраженного диффузного лимфоплазмочитарного инфильтрата происходит сдавление просвета альвеол, другие альвеолы компенсаторно расширены.

На гистологических препаратах легких баранов группы «ИК + NO» также визуализируются признаки венозного полнокровия, очаговые периваскулярные лимфогистиоцитарные и плазмочитарные инфильтраты (рис. 6). В эпителиоцитах средних и мелких

бронхов дистрофические изменения не выражены. Ацинусы имеют типичное строение.

Морфометрические показатели

Плотность клеточного инфильтрата в гистологическом материале легких была значимо ниже у баранов группы «ИК + NO» (2,5 (2; 3,51) кл. / мм²) в сравнении с животными группы «ИК» (3,23 (2,54; 4,38) кл. / мм²; $p = 0,006$). Статистически значимых межгрупповых различий в диаметре сосудов микроциркуляторного

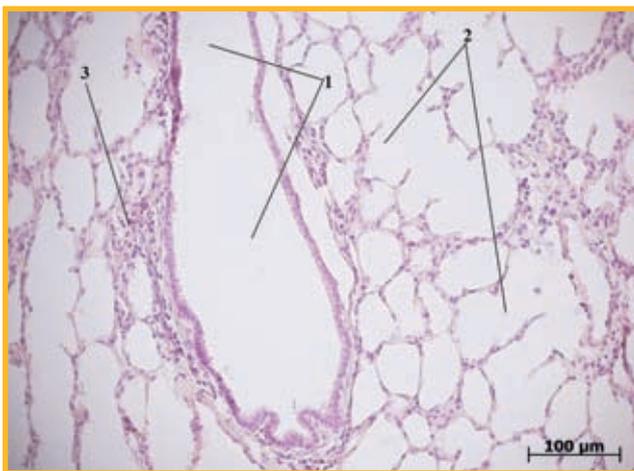


Рис. 5. Гистологический препарат фрагмента легкого барана группы искусственного кровообращения: выраженное расширение просвета терминальной бронхиолы (1), признаки эмфиземы (2), диффузный лимфоплазмочитарный инфильтрат (3); окраска гематоксилином-эозином

Figure 5. Histologic specimen of a ram lung fragment from the cardiopulmonary bypass group. Prominent dilatation of the lumen of the terminal bronchiole (1), signs of emphysema (2), diffuse lymphoplasmocytic infiltrate (3). Haematoxylin-eosin staining

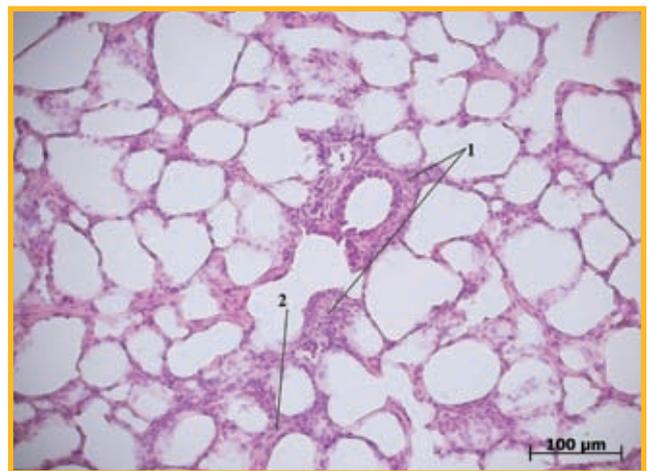


Рис. 6. Гистологический препарат фрагмента легкого барана группы «Искусственное кровообращение + оксид азота»: очаговый перибронхиальный лимфоплазмочитарный инфильтрат (1) и скопление лимфоцитов и плазмочитов в межальвеолярных перегородках (2); окраска гематоксилином-эозином

Figure 6. Histologic specimen of a ram lung fragment from the cardiopulmonary bypass + NO group. Focal peribronchial lymphoplasmocytic infiltrate (1) and accumulation of lymphocytes and plasmocytes in interalveolar septa (2). Haematoxylin-eosin staining

Таблица 2
Результаты морфометрического исследования гистологического материала легких баранов; Me (IQR)

Table 2
Results of morphometric study of histological material from ram lungs; Me (IQR)

Показатель	Группа		p
	«ИК + NO»	«ИК»	
Плотность инфильтрата, кл. / мм ²	2,5 (2; 3,51)	3,23 (2,54; 4,38)	0,006
Диаметр, мкм:			
• сосудов	71,1 (57,7; 97,1)	80,3 (64,5; 118)	0,26
• мелких бронхов	263 (228; 336)	207 (197; 281)	0,083
• терминальных бронхиол	148 (139; 165)	167 (140; 198)	0,172
• респираторных бронхиол	106 (93; 121)	114 (103; 142)	0,129
Площадь альвеол, %	67,7 (55,4; 73,3)	51,4 (34,1; 64)	<0,001

Примечание: ИК – искусственное кровообращение; NO – оксид азота; Me – медиана; IQR (InterQuartile range) – интерквартильный размах.

русла легких ($p = 0,26$), мелких бронхов ($p = 0,083$), терминальных ($p = 0,172$) и респираторных ($p = 0,129$) бронхиол не обнаружено. При морфометрическом исследовании гистологического материала легких исследуемых животных установлены статистически значимые различия площади альвеол (67,7 (55,4; 73,3) и 51,405 (34,1; 64) % в группах «ИК + NO» и «ИК» соответственно ($p < 0,001$). Информация о результатах морфометрического исследования гистологического материала легких баранов представлена в табл. 2.

Обсуждение

В данном исследовании продемонстрирован пульмонопротективный эффект NO у баранов при моделировании продленного ИК (90 мин). Доставка NO позволила ограничить повреждающее действие ИК, что проявилось в лучшем морфологическом и функциональном состоянии легких баранов группы «ИК + NO» в сравнении с баранами группы «ИК». Органопротективный эффект был реализован на всех уровнях: воздухоносные пути, респираторный отдел легких, интерстиций, сосуды микроциркуляторного русла.

По результатам морфометрии гистологического материала легких экспериментальных животных показано, что при донации NO значительно снижалась инфильтрация паренхимы легких клетками крови. В условиях ИРП мигрировавшие в ткань нейтрофилы и лимфоциты высвобождают значительное количество биологически активных веществ, в т. ч. АФК, результатом является разрушение структурных единиц ткани легкого [16]. По всей видимости, NO-опосредованное снижение инфильтрации легочной паренхимы внесло весомый вклад в его органопротективный эффект.

Воздухоносные пути экспериментальных животных группы «ИК» были изменены в большей степени, что выражалось в инфильтрации и отеке их стенки, изменении диаметра мелких бронхов, нарушении целостности эпителия и гиперсекреции бокаловидных экзокриноцитов. Данные морфологические изменения клинически могут проявляться повышением сопротивления дыхательных путей [29]. При морфо-

метрическом исследовании обнаружена тенденция к увеличению диаметра мелких бронхов баранов группы «ИК + NO», что подтверждается данными литературы, свидетельствующими о бронходилатирующем эффекте NO. Наиболее вероятно, что различий в диаметре бронхиол не выявлено в связи с отсутствием у них мышечной оболочки – точки приложения NO как бронходилататора [24].

При микроскопическом исследовании гистологических фрагментов легкого продемонстрировано лучшее состояние респираторных отделов легких у баранов группы «ИК + NO» в сравнении с животными группы «ИК» (деформация альвеолярных ходов, разрывы межальвеолярных перегородок, сдавление альвеол инфильтратом). В совокупности с результатами морфометрии (меньшая выраженность инфильтрации и большая площадь альвеол у животных группы «ИК + NO») это указывает на способность NO сохранять целостность структур ацинуса, нормальную проницаемость альвеолокапиллярной мембраны, что клинически может быть реализовано в виде улучшения газообменной функции легких [30]. Вероятно, этот эффект основан на способности NO улучшать энергетический обмен ткани легкого [8].

Сурфактант, вырабатываемый в значительном количестве депонирующийся в альвеолоцитах 2-го типа, является важным фактором, оказывающим влияние на поверхностное натяжение альвеол. Описанные микроскопические изменения респираторных отделов легких у баранов группы «ИК», связанные с разрушением альвеолоцитов и не наблюдавшиеся в группе «ИК + NO», могут быть ассоциированы с дефицитом сурфактанта, снижением поверхностного натяжения альвеол, усилением ателектотравмы и снижением комплаенса легких.

Легочная вазодилатация – самое известное и наиболее изученное свойство NO [24], однако при морфометрическом исследовании легких значимых различий в величине диаметра микрососудов легких не продемонстрировано. Вазодилатирующий эффект NO в первую очередь связан с его влиянием на тонус артериол [24]. При проведении исследования анализировался суммарный диаметр всех сосудов микроцир-

куляторного русла, в связи с этим значимых различий в величине данного показателя не получено. Улучшение реологических свойств крови при воздействии NO подтверждается фактом снижения количества сосудов микроциркуляторного русла с явлениями тромбоза и стаза форменных элементов крови в гистологическом материале экспериментальных животных, что согласуется с данными литературы [9].

NO применяется для синдромальной терапии критической гипоксемии при различных заболеваниях легких [31], поэтому межгрупповые различия показателей P / F-индекса перед окончанием эксперимента весьма закономерны, т. к. забор проб артериальной крови выполнялся на фоне продолжающейся ингаляции NO.

У каждого из животных обеих исследуемых групп отмечалось ухудшение легочного комплаенса в ходе эксперимента. Значимой разницы в величине данного показателя перед окончанием эксперимента не выявлено, вероятно, в связи с малым размером выборки; в группе «ИК» он снизился на 12,1 % vs 7,4 % в группе «ИК + NO». Значимость различий в величине легочного комплаенса стала более выраженной к концу эксперимента, что подтверждается данными о благоприятном влиянии NO на факторы, от которых он зависит, — поверхностное натяжение альвеол, количество внесосудистой воды легких, инфильтрация паренхимы легких и проходимость воздухоносных путей [32].

Заключение

Доставка NO при моделировании ИК у экспериментальных животных улучшает морфологическое и функциональное состояние легких, что реализуется в виде снижения воспалительных, сосудистых изменений и повреждения респираторного отдела легких (структуры альвеол, альвеолярных ходов и пневмоцитов). Требуется проведение клинических исследований, направленных на изучение пульмопротективных свойств NO.

Литература / References

1. Taggart D.P., el-Fiky M., Carter R. et al. Respiratory dysfunction after uncomplicated cardiopulmonary bypass. *Ann. Thorac. Surg.* 1993; 56 (5): 1123–1128. DOI: 10.1016/0003-4975(95)90029-2.
2. Canet J., Gallart L., Gomar C. et al. Prediction of postoperative pulmonary complications in a population-based surgical cohort. *Anesthesiology*. 2010; 113 (6): 1338–1350. DOI: 10.1097/ALN.0b013e-3181fc6e0a.
3. Ufoaroh C.U., Ele P.U., Anyabolu A.E. et al. Pre-operative pulmonary assessment and risk factors for post-operative pulmonary complications in elective abdominal surgery in Nigeria. *Afr. Health Sci.* 2019; 19 (1): 1745–1756. DOI: 10.4314/ahs.v19i1.51.
4. Apostolakis E., Filos K.S., Koletsis E., Dougenis D. Lung dysfunction following cardiopulmonary bypass. *J. Card. Surg.* 2010; 25 (1): 47–55. DOI: 10.1111/j.1540-8191.2009.00823.x.
5. Ng C.S., Wan S., Yim A.P. et al. Pulmonary dysfunction after cardiac surgery. *Chest*. 2002; 121 (4): 1269–1277. DOI: 10.1378/chest.121.4.1269.
6. Ng C.S., Wan S., Arifi A.A., Yim A.P. Inflammatory response to pulmonary ischemia-reperfusion injury. *Surg. Today*. 2006; 36 (3): 205–214. DOI: 10.1007/s00595-005-3124-2.

7. Gasparovic H., Plestina S., Sutlic Z. et al. Pulmonary lactate release following cardiopulmonary bypass. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 2007; 32 (6): 882–887. DOI: 10.1016/j.ejcts.2007.09.001.
8. Kamenshchikov N.O., Diakova M.L., Podoksenov Y.K. et al. Potential mechanisms for organoprotective effects of exogenous nitric oxide in an experimental study. *Biomedicines*. 2024; 12 (4): 719. DOI: 10.3390/biomedicines12040719.
9. Ferrari R.S., Andrade C.F. Oxidative stress and lung ischemia-reperfusion injury. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2015; 2015: 590987. DOI: 10.1155/2015/590987.
10. Vlastos D., Zeinah M., Ninkovic-Hall G. et al. The effects of ischemic conditioning on lung ischaemia-reperfusion injury. *Respir. Res.* 2022; 23 (1): 351. DOI: 10.1186/s12931-022-02288-z.
11. Zakkari M., Guida G., Suleiman M.S., Angelini G.D. Cardiopulmonary bypass and oxidative stress. *Oxid. Med. Cell Longev.* 2015; 2015: 189863. DOI: 10.1155/2015/189863.
12. Chen X., Chen H., Deng R., Shen J. Pros and cons of current approaches for detecting peroxynitrite and their applications. *Biomed. J.* 2014; 37 (3): 120–126. DOI: 10.4103/2319-4170.134084.
13. Schröder K. NADPH oxidases in redox regulation of cell adhesion and migration. *Antioxid. Redox Signal.* 2014; 20 (13): 2043–2058. DOI: 10.1089/ars.2013.5633.
14. Evans B.J., Haskard D.O., Finch J.R. et al. The inflammatory effect of cardiopulmonary bypass on leukocyte extravasation in vivo. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2008; 135 (5): 999–1006. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2007.08.071.
15. Talaie T., DiChiacchio L., Prasad N.K. et al. Ischemia-reperfusion injury in the transplanted lung: a literature review. *Transplant. Direct.* 2021; 7 (2): e652. DOI: 10.1097/TXD.0000000000001104.
16. Eltzschig H.K., Collard C.D. Vascular ischaemia and reperfusion injury. *Br. Med. Bull.* 2004; 70: 71–86. DOI: 10.1093/bmb/ldh025.
17. Dixon J.T., Gozal E., Roberts A.M. Platelet-mediated vascular dysfunction during acute lung injury. *Arch. Physiol. Biochem.* 2012; 118 (2): 72–82. DOI: 10.3109/13813455.2012.665463.
18. Marshall B.E., Marshall C., Benumof J., Saidman L.J. Hypoxic pulmonary vasoconstriction in dogs: effects of lung segment size and oxygen tension. *J. Appl. Physiol. Respir. Environ. Exerc. Physiol.* 1981; 51 (6): 1543–1551. DOI: 10.1152/jappl.1981.51.6.1543.
19. Tenling A., Hachenberg T., Tydén H. et al. Atelectasis and gas exchange after cardiac surgery. *Anesthesiology*. 1998; 89 (2): 371–378. DOI: 10.1097/00000542-199808000-00013.
20. Jurmann M.J., Dammenhayn L., Schaefer H.J., Haverich A. Pulmonary reperfusion injury: evidence for oxygen-derived free radical mediated damage and effects of different free radical scavengers. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 1990; 4 (12): 665–670. DOI: 10.1016/1010-7940(90)90059-9.
21. Sievers H.H., Freund-Kaas C., Eleftheriadis S. et al. Lung protection during total cardiopulmonary bypass by isolated lung perfusion: preliminary results of a novel perfusion strategy. *Ann. Thorac. Surg.* 2002; 74 (4): 1167–1172. DOI: 10.1016/s0003-4975(02)03853-5.
22. Löckinger A., Schütte H., Walmrath D. et al. Protection against gas exchange abnormalities by pre-aerosolized PGE1, iloprost and nitroprusside in lung ischemia-reperfusion. *Transplantation*. 2001; 71 (2): 185–193. DOI: 10.1097/00007890-200101270-00003.
23. Vlastos D., Zeinah M., Ninkovic-Hall G. et al. The effects of ischemic conditioning on lung ischaemia-reperfusion injury. *Respir. Res.* 2022; 23 (1): 351. DOI: 10.1186/s12931-022-02288-z.
24. Andrabi S.M., Sharma N.S., Karan A. et al. Nitric oxide: physiological functions, delivery, and biomedical applications. *Adv. Sci. (Weinh.)*. 2023; 10 (30): e2303259. DOI: 10.1002/advs.202303259.
25. Martel J., Ko Y.F., Young J.D., Ojcius D.M. Could nasal nitric oxide help to mitigate the severity of COVID-19? *Microbes Infect.* 2020; 22 (4-5): 168–171. DOI: 10.1016/j.micinf.2020.05.002.
26. Van Dervort A.L., Yan L., Madara P.J. et al. Nitric oxide regulates endotoxin-induced TNF-alpha production by human neutrophils. *J. Immunol.* 1994; 152 (8): 4102–4109. DOI: 10.4049/jimmunol.152.8.4102.
27. Chello M., Mastroberro P., Perticone F. et al. Nitric oxide modulation of neutrophil-endothelium interaction: difference between arterial and venous coronary bypass grafts. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1998; 31 (4): 823–826. DOI: 10.1016/s0735-1097(97)00560-3.
28. Kamenshchikov N.O., Duong N., Berra L. Nitric oxide in cardiac surgery: a review article. *Biomedicines*. 2023; 11 (4): 1085. DOI: 10.3390/biomedicines11041085.

29. Kaminsky D.A. What does airway resistance tell us about lung function? *Respir. Care*. 2012; 57 (1): 85–99. DOI: 10.4187/respcare.01411.
30. Nova Z., Skovierova H., Calkovska A. Alveolar-capillary membrane-related pulmonary cells as a target in endotoxin-induced acute lung injury. *Int. J. Mol. Sci.* 2019; 20 (4): 831. DOI: 10.3390/ijms20040831.
31. Papazian L., Aubron C., Brochard L. et al. Formal guidelines: management of acute respiratory distress syndrome. *Ann. Intensive Care*. 2019; 9 (1): 69. DOI: 10.1186/s13613-019-0540-9.
32. Scaramuzza G., Ottaviani I., Volta C.A., Spadaro S. Mechanical ventilation and COPD: from pathophysiology to ventilatory management. *Minerva Med.* 2022; 113 (3): 460–470. DOI: 10.23736/S0026-4806.22.07974-5.

Поступила: 28.03.24

Принята к печати: 24.04.24

Received: March 28, 2024

Accepted for publication: April 24, 2024

Информация об авторах / Authors Information

Кравченко Игорь Валерьевич – младший научный сотрудник лаборатории медицины критических состояний Научно-исследовательского института кардиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»; тел.: (913) 861-99-71; e-mail: kravchenko27.10.94@gmail.com (ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0841-4673>)

Igor V. Kravchenko, Junior Researcher, Laboratory of Critical Care Medicine, Research Institute of Cardiology, Federal State Budgetary Scientific Institution “Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences”; tel.: (913) 861-99-71; e-mail: kravchenko27.10.94@gmail.com (ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0841-4673>)

Геренг Елена Андреевна – д. м. н., доцент, профессор кафедры морфологии и общей патологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (913) 871-13-62; e-mail: e-gereng@mail.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7226-0328>)

Elena A. Gereng, Doctor of Medicine, Associate Professor, Professor, Department of Morphology and General Pathology, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Siberian State Medical University” of the Ministry of Health of the Russian Federation; tel.: (913) 871-13-62; e-mail: e-gereng@mail.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7226-0328>)

Подоксенов Юрий Кириллович – д. м. н., ведущий научный сотрудник отделения сердечно-сосудистой хирургии, ведущий научный сотрудник лаборатории медицины критических состояний Научно-исследовательского института кардиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»; тел.: (905) 990-46-34; e-mail: uk@cardio-tomsk.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8939-2340>)

Yuriy K. Podoksenov, Doctor of Medicine, Leading Researcher, Department of Cardiovascular Surgery, Leading Researcher, Laboratory of Critical Condition Medicine, Research Institute of Cardiology, Federal State Budgetary Scientific Institution “Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences”; tel.: (905) 990-46-34; e-mail: uk@cardio-tomsk.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8939-2340>)

Тё Марк Артурович – младший научный сотрудник лаборатории медицины критических состояний Научно-исследовательского института кардиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»; тел.: (913) 116-76-83; e-mail: marik640213@gmail.com (ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2672-6136>)

Mark A. Tyo, Junior Researcher, Laboratory of Critical Condition Medicine, Research Institute of Cardiology, Federal State Budgetary Scientific Institution “Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences”; tel.: (913) 116-76-83; e-mail: marik640213@gmail.com (ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2672-6136>)

Серебрякова Ольга Николаевна – ассистент кафедры морфологии и общей патологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (905) 090-34-48; e-mail: oserebryakovan@gmail.com (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2924-0724>)

Olga N. Serebryakova, Assistant, Department of Morphology and General Pathology, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Siberian State Medical University” of the Ministry of Health of the Russian Federation; tel.: (905) 090-34-48; e-mail: oserebryakovan@gmail.com (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2924-0724>)

Бянкина Мария Александровна – студентка медико-биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (923) 438-88-45; e-mail: byankina_masha@mail.ru (ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-4632-7396>)

Maria A. Byankina, Student, Faculty of Medicine and Biology, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Siberian State Medical University” of the Ministry of Health of the Russian Federation; tel.: (923) 438-88-45; e-mail: byankina_masha@mail.ru (ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-4632-7396>)

Горохова Анна Владимировна – студентка медико-биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (923) 422-69-83; e-mail: a.gorokhova3062@gmail.com (ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8401-7181>)

Anna V. Gorokhova, Student, Faculty of Medicine and Biology, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Siberian State Medical University” of the Ministry of Health of the Russian Federation; tel.: (923) 422-69-83; e-mail: a.gorokhova3062@gmail.com (ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8401-7181>)

Козлов Борис Николаевич – д. м. н., ведущий научный сотрудник лаборатории медицины критических состояний, руководитель отделения сердечно-сосудистой хирургии Научно-исследовательского института кардиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»; тел.: (906) 947-92-46; e-mail: bnkozlov@yandex.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0217-7737>)

Boris N. Kozlov, Doctor of Medicine, Leading researcher Laboratory of Critical Condition Medicine, Head of the Department of Cardiovascular Surgery, Research Institute of Cardiology, Federal State Budgetary Scientific Institution “Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences”; tel.: (906) 947-92-46; e-mail: bnkozlov@yandex.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0217-7737>)

Мильто Иван Васильевич – д. б. н., исполняющий обязанности заведующего кафедрой морфологии и общей патологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (913) 858-42-83; e-mail: milto_bio@mail.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9764-4392>)

Ivan V. Milto, Doctor of Biology, Acting Head of the Department of Morphology and General Pathology, Federal State-funded Educational Institution of Higher Education “Siberian State Medical University” of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation; tel.: (913) 858-42-83; e-mail: milto_bio@mail.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9764-4392>)

Каменщиков Николай Олегович – к. м. н., заведующий лабораторией медицины критических состояний Научно-исследовательского института кардиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»; тел.: (913) 818-36-57; e-mail: Nikolajkamenof@mail.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4289-4439>)

Nikolay O. Kamenshchikov, Candidate of Medicine, Head of the Laboratory of Critical Condition Medicine, Research Institute of Cardiology, Federal State Budgetary Scientific Institution “Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences”; tel.: (913) 818-36-57; e-mail: Nikolajkamenof@mail.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4289-4439>)

Участие авторов

Кравченко И.В. — проведение эксперимента, сбор биоматериала и данных, статистический анализ и интерпретация данных, структурирование материала и написание статьи

Геренг Е.А. — разработка концепции и дизайна исследования, статистический анализ и интерпретация данных, структурирование материала и написание статьи, проведение морфологических исследований, окончательное утверждение рукописи для публикации

Подоксенов Ю.К. — разработка концепции и дизайна исследования, проведение эксперимента, сбор биоматериала и данных, структурирование материала и написание статьи, окончательное утверждение рукописи для публикации

Тё М.А. — разработка концепции и дизайна исследования, проведение эксперимента, сбор биоматериала и данных, участие в написании текста статьи

Серебрякова О.Н., Бянкина М.А., Горохова А.В. — проведение морфологических исследований, подсчет результатов, участие в написании текста статьи

Козлов Б.Н. — разработка концепции и дизайна исследования, участие в написании текста статьи, окончательное утверждение рукописи для публикации

Мильто И.В. — разработка концепции и дизайна исследования, проведение морфологических исследований, участие в написании текста статьи, окончательное утверждение рукописи для публикации

Каменщиков Н.О. — разработка концепции и дизайна исследования, проведение эксперимента, сбор биоматериала и данных, структурирование материала и написание статьи, подсчет результатов, окончательное утверждение рукописи для публикации

Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации, несут ответственность за целостность всех частей статьи.

Authors Contribution

Kravchenko I.V. — conducting the experiment, collection of the biomaterial and data, statistical analysis and interpretation of the data, structuring the material and writing the article

Gereng E.A. — development of the concept and design of the study, statistical analysis and interpretation of the data, structuring the material and writing the article, conducting the morphological assays, final approval of the manuscript for publication

Podoksenov Y.K. — development of the concept and design of the study, conduct of the experiment, collection of biomaterial and data, structuring the material and writing the article, final approval of the manuscript for publication

Tyo M.A. — development of the concept and design of the study, conducting the experiment, collection of the biomaterial and data, writing part of the article

Serebryakova O.N., Byankina M.A., Gorokhova A.V. — conducting the morphological assays, calculation of results, writing part of the article

Kozlov B.N. — development of the concept and design of the study, writing part of the article, final approval of the manuscript for publication

Milto I.V. — development of the concept and design of the study, conducting the morphological assays, writing part of the article, final approval of the manuscript for publication

Kamenshchikov N.O. — development of the concept and design of the study, conducting the experiment, collection of the biomaterial and data, structuring the material and writing the article, calculating the results, final approval of the manuscript for publication

All authors made a significant contribution to the search, analysis, and preparation of the article, read and approved the final version before publication, and accepted responsibility for the integrity of all parts of the article.