

УДК 616-018+616.24-001+616.921.5
<https://doi.org/10.17816/MAJ19165-72>

ВЛИЯНИЕ МЕТИЛГЛИОКСАЛЯ НА ТЕЧЕНИЕ ОСТРОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ЛЕГКИХ У МЫШЕЙ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ИНФИЦИРОВАНИИ ВИРУСОМ ГРИППА А(H1N1)PDM09

А.Г. Александров, Т.Н. Саватеева-Любимова, А.А. Мужикян

ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, Санкт-Петербург

Для цитирования: Александров А.Г., Саватеева-Любимова Т.Н., Мужикян А.А. Влияние метилглиоксалия на течение острого повреждения легких у мышей при экспериментальном инфицировании вирусом гриппа А(H1N1)pdm09 // Медицинский академический журнал. – 2019. – Т. 19. – № 1. – С. 65–72. <https://doi.org/10.17816/MAJ19165-72>

Поступила: 18.01.2019

Одобрена: 20.02.2019

Принята: 28.02.2019

Цель исследования. Изучение влияния 2-оксопропаналя (метилглиоксаль) на течение вирус-индуцированного острого повреждения легких.

Материалы и методы. Исследование проведено на взрослых аутбредных самках мыши. Метилглиоксаль вводили подкожно в дозе 50 мг/кг/сут в течение 14 дней до инфицирования. С целью моделирования вирусной инфекции использовали штамм вируса гриппа А(H1N1)pdm09 в дозе, равной 0,75 расчетной величины LD₅₀. На 4, 7 и 14-е сутки после инфицирования выполняли гематологическое исследование цельной крови, патоморфологическое и гистологическое исследование легких. Степень поражения легочной ткани оценивали полуколичественным методом.

Результаты. Метилглиоксаль вызвал двукратное повышение летальности и площади поражения легких ($p < 0,05$), в том числе за счет структурных изменений, характерных для воспалительного процесса. Изменения носили прогрессивный характер. У животных с вирусной инфекцией отмечено повышение индекса соотношения нейтрофилов и лимфоцитов в среднем в 2,5 раза ($p < 0,05$ по отношению к интактным животным).

Заключение. Внутриклеточный предшественник AGEs метилглиоксаль усугублял тяжесть течения острого повреждения легких, индуцированного вирусом гриппа А(H1N1)pdm09, у мышей за счет значимого влияния на степень выраженности поражения легочной ткани и уровень летальности опытных животных.

Ключевые слова: метилглиоксаль; вирус гриппа А(H1N1)pdm09; летальность; острое повреждение легких; мыши.

THE EFFECT METHYLGLYOXAL ON ACUTE LUNG INJURY INDUCED BY INFLUENZA A(H1N1)PDM09 IN MICE

A.G. Aleksandrov, T.N. Savateeva-Lubimova, A.A. Mujikyan

Smorodintsev Research Institute of Influenza, Saint Petersburg, Russia

For citation: Aleksandrov AG, Savateeva-Lubimova TN, Mujikyan AA. The effect methylglyoxal on acute lung injury induced by influenza A(H1N1)pdm09 in mice. *Medical Academic Journal*. 2019;19(1):65-72. <https://doi.org/10.17816/MAJ19165-72>

Received: January 18, 2019

Revised: February 20, 2019

Accepted: February 28, 2019

The aim of the article. To study of the effect of 2-oxopropanal (methylglyoxal) on virus-induced acute lung injury.

Materials and methods. The study was performed on adult female outbred mice. Methylglyoxal administered subcutaneously at a dose of 50 mg/kg/day to mice for 14 days prior to infection. The pandemic influenza virus A(H1N1)pdm09 was used for modeling viral infection at a dose of 0.75 LD₅₀. Hematology, pathomorphological and histological studies were performed on 4, 7 and 14 days post infection. Level of lung injury was performed by semi-quantitative method.

Results. Methylglyoxal induced 2-fold increase of mortality and lung lesion area ($p < 0.05$). The structural changes in lung tissue had inflammatory character. These changes had progressive character. The ratio of neutrophils/lymphocytes was increased by 2.5 times on average in infected animals ($p < 0.05$ compared to intact animals).

Conclusion. Methylglyoxal aggravated acute lung injury in mice by inducing structural changes in tissue and increased mortality level.

Keywords: methylglyoxal; A(H1N1)pdm09 influenza virus; mortality; acute lung injury; mice.

Список сокращений

КПГ — конечные продукты гликирования; ОПЛ — острое повреждение легких; ЭДТА — этилендиаминтетрауксая кислота; LD₅₀ — средняя смертельная (летальная) доза.

Введение

Известно, что в период эпидемий и пандемий число больных с тяжелыми осложнениями гриппа, нередко несовместимыми с жизнью, резко возрастает, несмотря на широкое применение противовирусных препаратов и сопутствующую патогенетическую и симптоматическую терапию [1, 2]. Одним из тяжелых осложнений гриппозной инфекции является острое повреждение легких (ОПЛ). Независимо от этиологии основной причиной, приводящей к развитию ОПЛ у 55 % пациентов, служит прямое воздействие цитопатогенного фактора на эндотелий легочных капилляров и альвеолярный эпителий [3–5]. При гриппозной инфекции в основе патогенеза ОПЛ в первую очередь лежит повреждение эпителия альвеолярной мембраны [6]. Наряду с непосредственным цитопатогенным эффектом вируса гриппа на альвеолоциты значительную роль в развитии дополнительного повреждения легочной паренхимы играет воспаление, одним из индукторов которого являются конечные продукты гликирования (КПГ) [7, 8]. Основной внутриклеточный предшественник КПГ — метилглиоксаль — образуется в результате неферментативного гидролиза конечных продуктов гликолиза, а также перекисного окисления липидов [9]. На настоящий момент повреждающая роль КПГ наиболее хорошо изучена в патогенезе осложнений такого социально значимого заболевания, как сахарный диабет [10–13]. В то же время их вклад в развитие ОПЛ при вирусной инфекции выяснен не в полной мере. В связи с вышеизложенным целью данной работы являлось изучение влияния метилглиоксаля на течение ОПЛ у мышей при экспериментальном заражении вирусом гриппа A/H1N1/pdm09.

Материалы и методы

Эксперименты выполнены на восьмидневных беспородных мышках-самках ($n = 110$), полученных из ФГУП «Питомник лабораторных животных «Рапполово» РАН (пос. Рапполово, Ленинградская область). Все манипуляции осуществляли в соответствии с директивой 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях (Rus-LASA, 2012).

С целью моделирования вирусной инфекции использовали штамм вируса гриппа A(H1N1)pdm09, полученный из рабочей коллекции ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России. LD₅₀ штамм

вируса гриппа определяли по методике Рида — Менча на 20 мышках-самках [14]. Расчетная величина LD₅₀ вируса гриппа составила $10^{-3,4}$ в десятикратном разведении. Вирусная природа ОПЛ была подтверждена с помощью постановки реакции гемагглютинации. Легкие инфицированных животных гомогенизировали в физиологическом растворе. Гомогенат центрифугировали, отбирали супернатант, который вводили в аллантаоисную полость куриных эмбрионов и инкубировали при 36 °C в течение 48 часов. Перед забором аллантаоисной жидкости яйца охлаждали при температуре +4 °C в течение 3–4 часов. К забранному биоматериалу добавляли эквивалентный объем 1 % взвеси эритроцитов в физиологическом растворе. Присутствие вирусных частиц в материале было подтверждено образованием характерного зонтика [15].

В экспериментах по изучению влияния метилглиоксаля на течение ОПЛ животные были разделены на три группы: 1-я группа — интактные животные ($n = 10$); 2-я группа — инфицированные мыши, получавшие плацебо ($n = 40$); 3-я группа — инфицированные мыши, получавшие метилглиоксаль ($n = 40$). Вирусосодержащий материал вводили интраназально в дозе, равной 0,75 расчетной величины LD₅₀, или $10^{-3,5}$ в десятикратном разведении. Метилглиоксаль (Sigma-Aldrich, США) вводили в дозе 50 мг/кг/сут подкожно (п/к) в течение двух недель до инфицирования [16].

Забор крови для гематологического исследования осуществляли в эппендорфы с ЭДТА и анализировали по следующим параметрам: количество лейкоцитов, лейкоцитарная формула. Количество лейкоцитов определяли на автоматическом гематологическом анализаторе Abacus Junior Vet, лейкоцитарную формулу — в окрашенном по Романовскому — Гимзе мазке крови при микроскопировании. Макроскопическое и гистологическое исследование проводили на 4, 7 и 14-е сутки либо после смерти животного в ходе эксперимента. Ход гистологического исследования: подготовка фиксирующих жидкостей, отбор материала во время вскрытия, фиксация материала, вырезание кусочков фиксированного материала, уплотнение обезвоживанием кусочков и заливка в парафин, резка блоков на санном микротоме, окраска парафиновых срезов (гематоксилином и эозином), просмотр гистологических препаратов, описание препаратов, микрофотосъемка, изготовление отпечатков.

Степень поражения легочной ткани оценивали согласно методике, предложенной American Thoracic Society [17] и заключающейся в подсчете баллов согласно табл. 1 в 20 по-

Оценка значимости гистологических показателей поражения легких в баллах
Lung injury scoring system by histological parameters

Параметры	Количество баллов на одно поле		
	0	1	2
А. Нейтрофилы в альвеолах	–	1–5	>5
В. Нейтрофилы в интерстиции	–	1–5	>5
С. Гиалиновые мембраны	–	1	>1
Д. Наличие белкового дебриса в воздушном пространстве	–	1	>1
Е. Утолщение альвеолярной перегородки	< ×2	×2–4	> ×4

Примечание: × – кратность утолщения.

лях при увеличении ×400. Степень поражения оценивали по формуле

$$\text{Степень поражения} = \frac{(20 \cdot A) + (14 \cdot B) + (7 \cdot C) + (7 \cdot D) + (2 \cdot E)}{\text{кол-во просмотренных полей} \cdot 100},$$

при этом учитывали параметры (А, В, С, D, Е), указанные в табл. 1.

Оценку статистической значимости различий проводили при помощи программы Graphpad Prism 7. Для регистрируемых количественных переменных рассчитывали параметры описательной статистики, характеризующие данные по каждой группе. Параметры описательной статистики включали: среднее значение параметра в группе (Mean), стандартное отклонение средней (Std. Dev), стандартная ошибка (Std. Err, ± m), 25-й и 75-й процентиля. Отличия между выборками оценивали с помощью непараметрических критериев Краскела – Уоллиса и Манна – Уитни. Данные в таблицах представлены в виде среднего (M) и его ошибки (± m). Для попарного сравнения выживаемости применяли лог-ранговый тест с учетом поправки Бонферрони. Динамика выживаемости представлена в виде кривых Мантела – Кокса. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

На 40 животных из 2-й и 3-й групп (по 20 особей в группе) была изучена клиническая картина течения патологии и динамика летальности в течение всего периода наблюдения. Полученные данные представлены на рис. 1.

Гибель животных, получавших метилглиоксаль (3-я группа), наступала в период с 7-го по 12-й день с момента инфицирования, в группе сравнения — с 8-го по 11-й день соответственно. Общая летальность в течение периода наблюдения у животных из 3-й группы составила

70 %, что значимо превышало значение данного показателя по сравнению с животными из 2-й группы — 35 % ($p < 0,05$). Клиническая картина, предшествующая гибели животных, характеризовалась снижением двигательной активности и мышечного тонуса, отсутствием реакции на внешние раздражители, неопрятностью шерстного покрова, прогрессирующим падением массы тела, снижением температуры в среднем на три градуса и увеличением глубины экскурсии грудной клетки.

Патоморфологическое исследование погибших животных из обеих опытных групп показало наличие кровоизлияния в обоих легких, достигающее 90–100 % от всей площади органа. Гистологическое исследование выявило наличие генерализованного альвеолярного отека и десквамации эпителиальной ткани. Наблюдались субтотальные и тотальные кровоизлияния в альвеолах и бронхах, большое

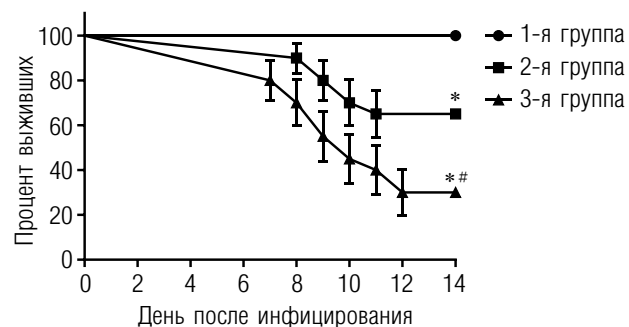
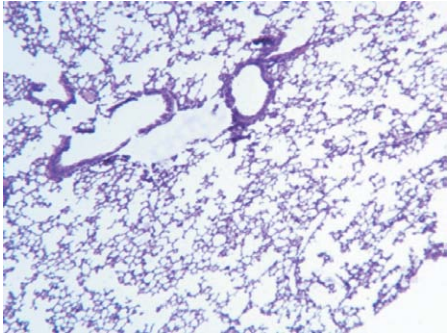
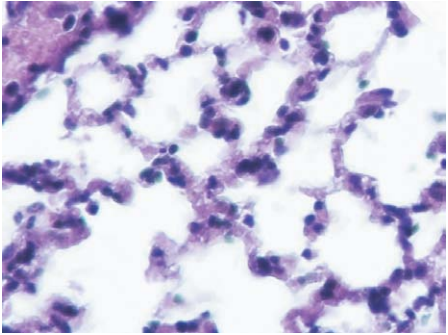
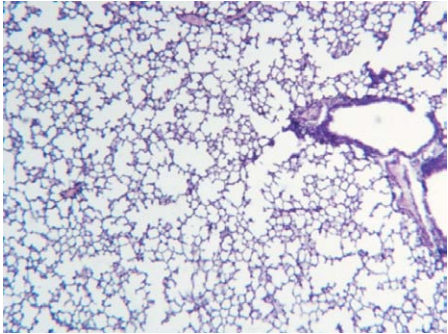
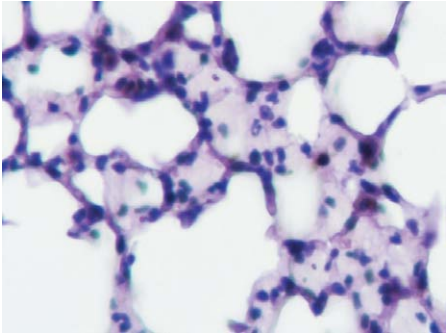
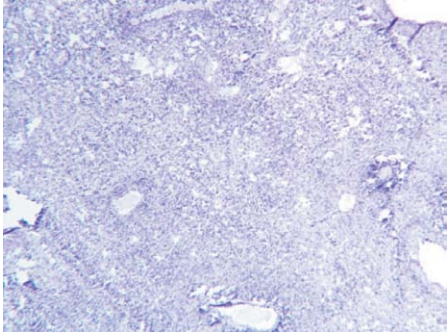
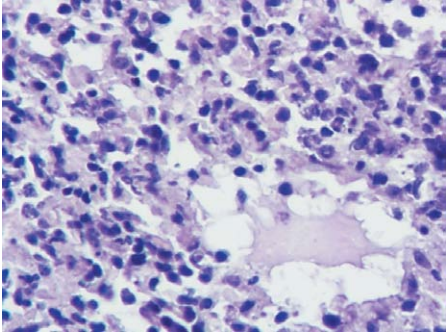
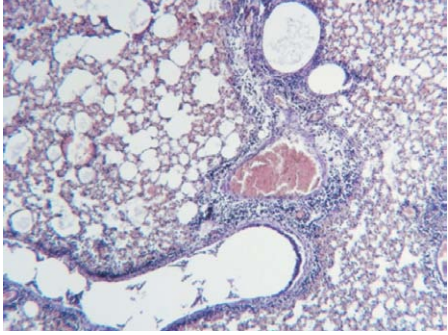
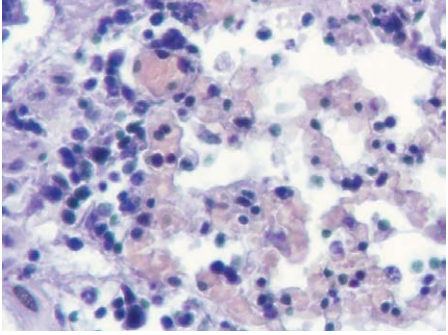
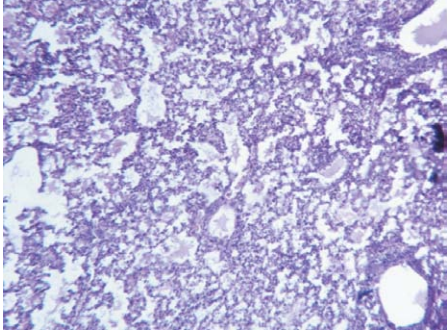
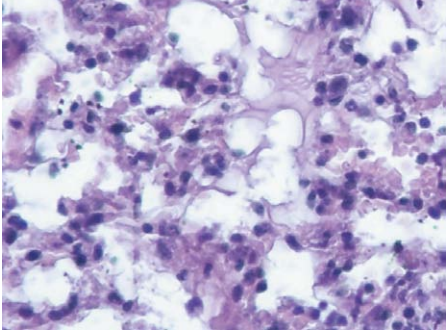


Рис. 1. Процент выживания животных в течение опыта. 1-я группа — интактные мыши; 2-я группа — инфицированные мыши, получавшие NaCl 0,9 %; 3-я группа — инфицированные мыши, получавшие метилглиоксаль, * $p > 0,05$ в сравнении с интактными животными, # $p > 0,05$ в сравнении с инфицированными мышами, получавшими NaCl 0,9 %

Fig. 1. Percent survival during experiment. 1st group — intact mice, 2nd group — infected mice treated with NaCl 0.9%, 3rd group — infected mice treated with methylglyoxal. * $p > 0,05$ compared to intact mice, # $p > 0,05$ compared to infected mice treated with NaCl 0.9%

	×40	×400
<i>a</i>		
<i>b</i>		
<i>c</i>		
<i>d</i>		
<i>e</i>		

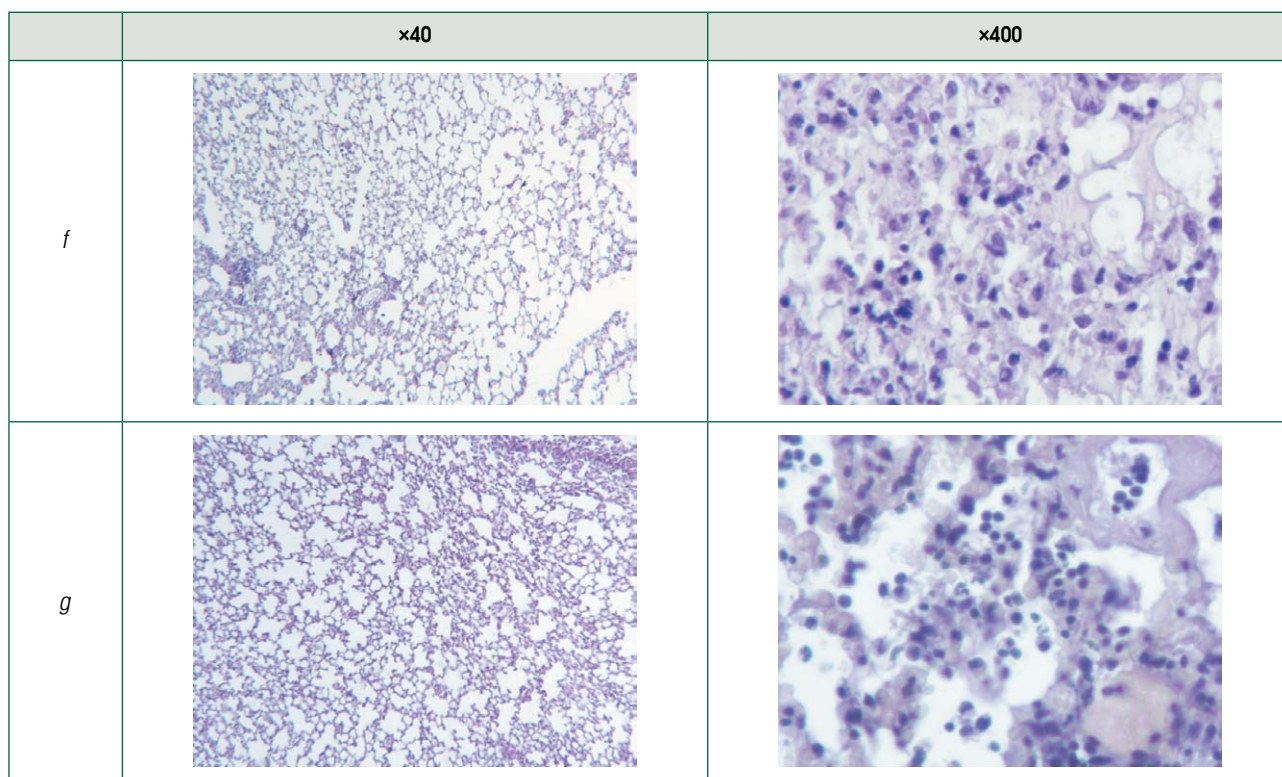


Рис. 2. Паренхима легких опытных мышей. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 40$ и $\times 400$. *a* — интактные мыши; *b* — 2-я группа на 4-е сутки; *c* — 3-я группа на 4-е сутки; *d* — 2-я группа на 7-е сутки; *e* — 3-я группа на 7-е сутки; *f* — 2-я группа на 14-е сутки; *g* — 3-я группа на 14-е сутки

Fig. 2. Lung parenchyma of mice. Hematoxylin and eosin staining, magnification $\times 40$ and $\times 400$. *a* — intact mice; *b* — 2nd group on 4th day; *c* — 3rd group on 4th day; *d* — 2nd group on 7th day; *e* — 3rd group on 7th day; *f* — 2nd group on 14th day; *g* — 3rd group on 14th day

количество гиалиновых мембран и инфильтратов в стенках альвеол. Данные изменения были отмечены как в верхних, так и в нижних отделах легких.

В параллельном эксперименте, на оставшихся 20 животных из каждой опытной группы, было проведено морфологическое и гистологическое исследование легких, а также проанализированы гематологические показатели. На 4-е и 7-е сутки после инфицирования по четыре особи из 2-й и 3-й групп подвергали плановой эвтаназии и производили забор биологического материала. Отбор животных при этом основывался на клинической картине, предшествующей гибели и описанной выше. На 14-е сутки были забраны легкие мышей из 1-й группы (интактные животные) и выживших животных из 2-й и 3-й групп.

На 4-е сутки эксперимента у мышей из обеих опытных групп (2-я и 3-я) площадь поражения легочной паренхимы составила $35,00 \pm 5,27$ и $76,75 \pm 8,04$ % ($p < 0,05$ по отношению ко 2-й группе) общей площади легких соответственно. Гистологическое исследование легких животных из 2-й группы выявило повреждение альвеолоцитов и эпителия бронхов, сопровож-

давшееся десквамацией клеток, оголением базальной мембраны и инициацией процесса образования гиалиновых мембран. В просвете альвеол отмечались скопления альвеолярных макрофагов. Наблюдались очаги альвеолярного отека, локальные кровоизлияния в альвеолы и мелкие очаги ателектазов. У животных из 3-й группы гистологические изменения ткани легких характеризовались наличием выраженной смешанно-клеточной воспалительной инфильтрации с формированием микроскопической картины острой бронхопневмонии. В целом гистологическая картина ОПЛ у инфицированных животных из обеих опытных групп носила однонаправленный характер. Однако степень выраженности изменений в группе животных, получавших метилглиоксаль, была значимо выше, чем у животных из группы сравнения, что определялось количеством клеточных инфильтратов в альвеолах и их стенках, а также степенью отечных проявлений. Так, суммарная полуколичественная оценка поражения легких у инфицированных мышей, получавших плацебо и метилглиоксаль, составила $0,43 \pm 0,01$ и $0,57 \pm 0,02$ балла ($p < 0,05$ по отношению к группе сравнения) соответственно,

а общее значение показателей, характеризующих собственно воспалительный процесс (содержание нейтрофилов и толщина альвеолярных стенок), — $0,32 \pm 0,01$ и $0,42 \pm 0,01$ балла ($p < 0,05$ по отношению к группе сравнения).

На 7-е сутки после инфицирования площадь поражения легочной паренхимы у животных из 2-й и 3-й групп составила $75,00 \pm 5,00$ и $87,50 \pm 5,00$ % соответственно. Гистологическое исследование легких животных из 2-й группы показало присутствие гиалиновых мембран и увеличение толщины межальвеолярных перегородок. Наблюдались кровоизлияния в альвеолах, ателектазы, клеточные инфильтраты в периваскулярных пространствах и «опечение» легкого (формирование геморрагической пневмонии). Одновременно с проявлениями, характерными для воспалительного процесса, отмечались признаки очаговой пролиферации соединительнотканых клеток с тенденцией к замещению легочной паренхимы фиброзной тканью. В свою очередь, у животных, получавших метилглиоксаль, изменения легочной паренхимы носили более выраженный характер, в частности, за счет показателей толщины альвеолярных стенок, количества гиалиновых мембран, отеков в альвеолах и бронхах, ателектазов и клеточных инфильтратов в альвеолах и альвеолярной стенке, признаков циркуляторных нарушений, очагов геморрагической пневмонии и фибротизации. Суммарная полуколичественная оценка поражения легких составила $0,66 \pm 0,02$ и $0,75 \pm 0,01$ балла ($p < 0,05$ по отношению к группе сравнения) у животных из 2-й и 3-й групп соответственно, а общее значение показателей, характеризующих собственно воспалительный процесс, — $0,51 \pm 0,02$ и $0,59 \pm 0,01$ балла (2-я и 3-я группы соответственно).

Таким образом, в результате сравнительной гистологической оценки повреждения легких в динамике (4-е и 7-е сутки после инфицирования) у животных из обеих опытных групп был установлен прогрессивный характер течения смоделированной патологии. Анатомические повреждения легких и уровень летальности при этом у животных, получавших метилглиоксаль, значительно превышали таковые у животных из группы сравнения.

Результаты патоморфологического и гистологического исследования (выжившие животные из обеих опытных групп, подвергнутые плановой эвтаназии), проведенного на 14-е сутки после инфицирования, свидетельствовали о наличии выраженной тенденции к замещению легочной паренхимы фиброзной тканью. Легкие приобрели серый оттенок, а их структура стала плотной и менее эластичной. Наряду с этим имело место снижение количества кровоизлияний в альвеолах и бронхах, гиалиновых мембран и нейтрофилов в альвеолах и альвеолярной стенке. Достоверных различий в уровне повреждения легких в исследуемых группах не было.

Полученные при гистологическом исследовании данные представлены на рис. 2.

Анализ гематологических показателей (табл. 2) продемонстрировал, что у животных из обеих опытных групп значимо ($p < 0,05$ по отношению к интактным животным) изменился индекс нормального соотношения «нейтрофилы/лимфоциты»: $0,21 \pm 0,02$ у интактных животных, $0,61 \pm 0,07$ и $0,69 \pm 0,11$ на 4-е сутки и $0,54 \pm 0,09$ и $0,55 \pm 0,04$ на 7-е сутки эксперимента (2-я и 3-я группы соответственно). Так как значимых межгрупповых различий по данному показателю выявлено не было,

Таблица 2 / Table 2

Гематологические показатели животных в течение эксперимента
Animal hematological parameters during experiment

Показатели	Экспериментальные группы (n = 4) и сроки исследования						
	1-я группа	4-е сутки		7-е сутки		14-е сутки	
		2-я группа	3-я группа	2-я группа	3-я группа	2-я группа	3-я группа
Лейкоциты, 10^9 /л	$8,05 \pm 0,31$	$9,29 \pm 0,56$	$8,95 \pm 0,76$	$6,16 \pm 0,60$	$5,12 \pm 0,59^*$	$7,22 \pm 0,74$	$9,00 \pm 0,70$
Сегментоядерные нейтрофилы, %	$16,25 \pm 1,13$	$31,25 \pm 1,38^*$	$33,00 \pm 2,50^*$	$28,00 \pm 2,50^*$	$30,25 \pm 2,38^*$	$26,25 \pm 1,69^*$	$27,00 \pm 1,50^*$
Палочкоядерные нейтрофилы, %	$0,25 \pm 0,19$	$2,75 \pm 0,63$	$3,50 \pm 1,00$	$3,75 \pm 1,13$	$2,50 \pm 0,75$	$1,00 \pm 0,50$	$1,25 \pm 0,69$
Эозинофилы, %	$1,75 \pm 0,63$	$5,50 \pm 1,00$	$5,25 \pm 0,63$	$4,25 \pm 1,19$	$3,25 \pm 0,88$	$4,25 \pm 1,19$	$3,00 \pm 0,75$
Базофилы, %	$0,50 \pm 0,25$	$0,25 \pm 0,19$	—	$0,25 \pm 0,19$	$0,25 \pm 0,19$	—	$0,25 \pm 0,19$
Лимфоциты, %	$79,00 \pm 1,75$	$57,25 \pm 3,13^*$	$55,00 \pm 3,00^*$	$60,75 \pm 2,38^*$	$60,75 \pm 2,38^*$	$66,60 \pm 1,75$	$65,75 \pm 3,44$
Моноциты, %	$2,25 \pm 0,19$	$3,00 \pm 0,25$	$3,25 \pm 0,19$	$3,00 \pm 0,75$	$3,00 \pm 0,75$	$2,50 \pm 0,50$	$3,00 \pm 1,00$

Примечание. * $p > 0,05$ в сравнении с интактными животными.

то изменение данного индекса, обусловленное нейтрофилезом и лимфопенией, в первую очередь служит маркером собственно гриппозной инфекции. Аналогичные данные были получены М. Preusse et al. [18] при инфицировании мышей вирусами гриппа штаммов A/PuertoRico/8/1934 (H1N1). Снижение же содержания свободно циркулирующих лейкоцитов (значимо на 7-е сутки у животных из группы, получавшей метилглиоксаль) на фоне описанных микроскопических изменений в легких, скорее всего, было обусловлено их миграцией из периферической крови в очаг воспаления.

На 14-е сутки после инфицирования индекс соотношения «нейтрофилы/лимфоциты» составил $0,42 \pm 0,03$ и $0,43 \pm 0,06$ во 2-й и в 3-й группах соответственно, а значимых отличий в показателе содержания лейкоцитов и лимфоцитов у опытных животных по сравнению с интактными особями не было. В то же время относительное содержание нейтрофилов продолжало оставаться повышенным.

Заключение

Оценка влияния внутриклеточного предшественника КПП метилглиоксала на течение ОПЛ позволила установить, что он усугубляет структурные нарушения в легочной ткани у мышей, инфицированных вирусом гриппа A/H1N1/pdm09, и повышает летальность опытных животных по сравнению с животными из контрольной группы. С учетом ранее полученных данных о роли предшественников КПП в формировании провоспалительного ответа при различных патологических состояниях [19, 20], скорее всего, выявленное негативное действие метилглиоксала в условиях данного эксперимента может быть связано с усилением гликолиза в очаге воспаления (легочная ткань). Выявленное в ходе исследования изменение индекса нормального соотношения «нейтрофилы/лимфоциты» свидетельствовало о наличии гриппозной инфекции и не было напрямую связано с действием предшественника КПП.

Полученные данные могут являться основанием для изучения эффективности фармакологических зондов, способствующих инактивации процесса накопления предшественников КПП, с целью повышения эффективности лечения тяжелой гриппозной инфекции.

Литература

1. Грипп у взрослых: методические рекомендации по диагностике, лечению, специфической и неспецифической профилактике / Под ред. А.Г. Чучалина, Т.В. Сологуб. – СПб.: НП-Принт, 2014. – 192 с. [Gripp u vzroslykh: metodicheskie rekomendatsii po diagnostike, lecheniyu, spetsificheskoy i nespetsificheskoy profilaktike. Ed. by A.G. Chuchalin, T.V. Sologub. Saint Petersburg: NP-Print; 2014. 192 p. (In Russ.)]
2. Киселев О.И. Пандемии начала XXI века. Грипп птиц и пандемия «свиного» гриппа H1N1 2009 г. – СПб.: Фолиант, 2016. – 368 с. [Kiselev OI. Pandemii nachala XXI veka. Gripp ptits i pandemiya "svinogo" grippa H1N1 2009 g. Saint Petersburg: Foliant; 2016. 368 p. (In Russ.)]
3. Чурляев Ю.А., Вереин М.Ю., Кан С.Л., и др. Острый респираторный дистресс-синдром при тяжелой черепно-мозговой травме // Общая реаниматология. – 2009. – Т. 5. – № 2. – С. 21–26. [Churlyayev YA, Verein MY, Kan SL, et al. Acute respiratory distress syndrome in severe brain injury. *General Reanimatology*. 2009;5(2):21-26. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2009-2-21>.
4. Фастова И.А., Губанова Е.И. Синдром острого повреждения легких при экспериментальном перитоните // Вестник новых медицинских технологий. – 2012. – Т. 19. – № 2. – С. 114–117. [Fastova IA, Gubanova EI. Acute lungs injury syndrome in experimental peritonitis. *Journal of new medical technologies*. 2012;19(2):114-117. (In Russ.)]
5. Росстальная А.Л., Сабиров Д.М., Акалаев Р.Н., и др. Острое повреждение легких: спорные вопросы и нерешенные проблемы (обзор литературы) // Журнал им. Н.В. Склифосовского Неотложная медицинская помощь. – 2016. – № 3. – С. 66–72. [Rosstalnaya AL, Sabirov DM, Akalaev RN, et al. Acute lung injury: issues and remaining challenges (a literature review). *Neotlozhnaya meditsinskaya pomoshch'*. 2016;(3):66-72. (In Russ.)]
6. Short KR, Kroeze EJBV, Fouchier RAM, Kuiken T. Pathogenesis of influenza-induced acute respiratory distress syndrome. *Lancet Infect Dis*. 2014;14(1):57-69. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(13\)70286-x](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(13)70286-x).
7. Kim KM, Jung DH, Jang DS, et al. Puerarin suppresses AGEs-induced inflammation in mouse mesangial cells: a possible pathway through the induction of heme oxygenase-1 expression. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2010;244(2):106-113. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2009.12.023>.
8. Byun K, Yoo Y, Son M, et al. Advanced glycation end-products produced systemically and by macrophages: A common contributor to inflammation and degenerative diseases. *Pharmacol Ther*. 2017;177:44-55. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2017.02.030>.
9. Singh R, Barden A, Mori T, Beilin L. Advanced glycation end-products: a review. *Diabetologia*. 2001;44(2):129-146. <https://doi.org/10.1007/s001250051591>.
10. Балаболкин М.И. Роль гликирования белков, окислительного стресса в патогенезе сосудистых осложнений при сахарном диабете // Сахарный диабет. – 2002. – Т. 5. – № 4. – С. 8–16. [Balabolkin MI. Rol' glikirovaniya belkov, oksislitel'nogo stressa v patogeneze sosudistykh oslozhneniy pri sakharnom diabete. *Diabetes mellitus*. 2002;5(4):8-16. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.14341/DM200248-16>.
11. Ahmed N, Thornalley PJ. Роль конечных продуктов гликирования в патогенезе осложнений сахарного диабета // ПМЖ. – 2009. – Т. 17. – № 9. – С. 642–650. [Ahmed N,

- Thornalley PJ. Rol' konechnykh produktov glikirovaniya v patogeneze oslozhneniy sakharnogo diabeta. *RMZh*. 2009;17(9):642-650. (In Russ.)
12. Подачина С.В. Роль блокаторов конечного гликирования белков в формировании неврологических осложнений сахарного диабета // Фарматека. — 2011. — № 16. — С. 37–42. [Podachina SV. Role of glycation end-products blockers in the development of neurologic complications of diabetes mellitus. *Farmateka*. 2011;(16):37-42. (In Russ.)]
 13. Спасов А.А., Соловьева О.А., Кузнецова В.А. Гликирование белков при сахарном диабете и возможности его фармакологической коррекции (обзор) // Химико-фармацевтический журнал. — 2017. — Т. 51. — № 6. — С. 3–7. [Spasov AA, Solov'eva OA, Kuznetsova VA. Protein glycation during diabetes mellitus and the possibility of its pharmacological correction (Review). *Pharmaceutical chemistry journal*. 2017;51(6):3-7. (In Russ.)]
 14. Урбах В.Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях. — М.: Медицина, 1975. — 296 с. [Urbakh VY. Statisticheskii analiz v biologicheskikh i meditsinskikh issledovaniyakh. Moscow: Meditsina; 1975. 296 p. (In Russ.)]
 15. Ожередова Н.А., Веревкин М.Н., Светлакова Е.В. Общая вирусология: Методические указания. — Ставрополь: АГРУС, 2013. — 50 с. [Ozheredova NA, Verevkin MN, Svetlakov EV. Obshchaya virusologiya: Metodicheskie ukazaniya. Stavropol': AGRUS; 2013. 50 p. (In Russ.)]
 16. Golej J, Hoeger H, Radner W, et al. Oral administration of methylglyoxal leads to kidney collagen accumulation in the mouse. *Life Sci*. 1998;63(9):801-807. [https://doi.org/10.1016/s0024-3205\(98\)00336-1](https://doi.org/10.1016/s0024-3205(98)00336-1).
 17. Matute-Bello G, Downey G, Moore BB, et al. An official American Thoracic Society workshop report: features and measurements of experimental acute lung injury in animals. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2011;44(5):725-738. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2009-0210ST>.
 18. Preusse M, Schughart K, Wilk E, et al. Hematological parameters in the early phase of influenza A virus infection in differentially susceptible inbred mouse strains. *BMC Res Notes*. 2015;8:225. <https://doi.org/10.1186/s13104-015-1195-8>.
 19. Di Loreto S, Caracciolo V, Colafarina S, et al. Methylglyoxal induces oxidative stress-dependent cell injury and up-regulation of interleukin-1beta and nerve growth factor in cultured hippocampal neuronal cells. *Brain Res*. 2004;1006(2):157-167. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2004.01.066>.
 20. Baig MH, Jan AT, Rabbani G, et al. Methylglyoxal and Advanced Glycation End products: Insight of the regulatory machinery affecting the myogenic program and of its modulation by natural compounds. *Sci Rep*. 2017;7(1):5916. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-06067-5>.

Сведения об авторах / Information about the authors

Андрей Георгиевич Александров — аспирант лаборатории безопасности лекарственных средств ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0001-9212-3865>. E-mail: forphchemistry@gmail.com.

Татьяна Николаевна Саватеева-Любимова — д-р мед. наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории безопасности лекарственных средств ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0003-4516-3308>. E-mail: drugs_safety@mail.ru.

Арман Артушович Мужикян — канд. ветеринар. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории безопасности лекарственных средств ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0002-7093-0014>. E-mail: vetdiagnostics.spb@gmail.com.

Andrei G. Aleksandrov — a graduate student in the Laboratory of Drug Safety of Smorodintsev Research Institute of Influenza, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0001-9212-3865>. E-mail: forphchemistry@gmail.com.

Tatiana N. Savateeva-Lyubimova — Professor, MD, PhD in Medicine, Leading Researcher in the Laboratory of Drug Safety of Smorodintsev Research Institute of Influenza, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0003-4516-3308>. E-mail: drugs_safety@mail.ru.

Arman A. Muzhikyan — PhD in Veterinary Sciences, Leading Researcher in the Laboratory of Drug Safety of Smorodintsev Research Institute of Influenza, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0002-7093-0014>. E-mail: vetdiagnostics.spb@gmail.com.

✉ Контактное лицо / Corresponding author

Андрей Георгиевич Александров / Andrei G. Aleksandrov
E-mail: forphchemistry@gmail.com