

Изменения электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов у пациентов с проявлениями метаболического синдрома, реконвалесцентов COVID-19, при воздействии цитиколина в эксперименте *in vitro*

М.В. Кручинина^{✉1,2}, А.А. Громов^{1,3}, Э.В. Кручинина², Ю.А. Шишакина²

¹Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН», Новосибирск, Россия;

²ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия;

³ООО «Центр профилактики тромбозов», Новосибирск, Россия

Аннотация

Цель. Изучить изменения электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов с помощью метода диэлектрофореза у пациентов с проявлениями метаболического синдрома, перенесших COVID-19, при воздействии препарата цитиколин в эксперименте *in vitro* для снижения выраженности микроциркуляторных нарушений.

Материалы и методы. Обследован 31 мужчина с проявлениями метаболического синдрома (50,6±9,9 года), реконвалесценты COVID-19, в сроки от 8 до 12 мес после перенесенного заболевания, диагноз подтвержден методами полимеразной цепной реакции и иммуноферментного анализа. Электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов исследованы методом диэлектрофореза дважды: определены начальные уровни показателей и через 30 мин экспозиции с препаратом Роноцит (раствор для внутривенного введения с активным веществом – цитиколин натрия) в концентрации 0,01 мкл на 0,3 мкл взвеси эритроцитов в 0,3М растворе сахарозы (рН 7,36).

Результаты. Экспозиция взвеси эритроцитов пациентов с раствором препарата Роноцит привела к изменению уровней параметров: увеличению среднего диаметра клеток ($p=0,0003$), доли дискоцитов ($p=0,0004$), амплитуды деформации клеток на высоких частотах электрического поля ($p=0,000002$), емкости ($p=0,000007$), скорости движения эритроцитов к электродам ($p=0,003$), дипольного момента ($p=0,002$), поляризуемости на 10^6 и $0,5 \times 10^6$ Гц ($p=0,000019$ и $p=0,0015$ соответственно), относительной поляризуемости ($p<0,05$) и, напротив, к снижению обобщенных жесткости ($p=0,000003$), вязкости ($p=0,000002$), электропроводности ($p<0,000001$), индексов агрегации ($p=0,00003$), деструкции на частотах 10^6 Гц ($p=0,003$), $0,5 \times 10^6$ Гц ($p=0,00002$), $0,1 \times 10^6$ Гц ($p<0,00001$), поляризуемости на низких частотах электрического поля ($p=0,02$). Под воздействием препарата произошло смещение равновесной частоты эритроцитов в низкочастотный диапазон по сравнению с начальными величинами ($p<0,0000001$). Выявленные изменения свидетельствуют о повышении поверхностного заряда эритроцитов, их способности к деформации, резистентности клеток под действием цитиколина.

Заключение. Впервые обнаружен эффект препарата с активным веществом цитиколином, улучшающий реологические свойства эритроцитов. Препараты цитиколина следует считать перспективными для проведения полноценного клинического исследования по изучению снижения нарушений кровообращения на микроциркуляторном уровне у пациентов с проявлениями метаболического синдрома, перенесших COVID-19.

Ключевые слова: параметры, эритроциты, диэлектрофорез, метаболический синдром, цитиколин, COVID-19

Для цитирования: Кручинина М.В., Громов А.А., Кручинина Э.В., Шишакина Ю.А. Изменения электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов у пациентов с проявлениями метаболического синдрома, реконвалесцентов COVID-19, при воздействии цитиколина в эксперименте *in vitro*. *Consilium Medicum*. 2023;25(11):767–774. DOI: 10.26442/20751753.2023.11.202528

© ООО «КОНСИЛИУМ МЕДИКУМ», 2023 г.

Введение

Коронавирус с тяжелым острым респираторным синдромом 2 (SARS-CoV-2) – это новый коронавирус, впервые описанный в 2019 г., вызвавший пандемию острого респираторного заболевания – коронавирусной болезни 2019 (COVID-19) [1]. Инфекция SARS-CoV-2 может вызывать легкие или тяжелые транзиторные заболевания, включая

тяжелый острый респираторный синдром, коагулопатию, повреждение сосудов и органов, микроангиопатию и фенотипы неврологических заболеваний, не связанные исключительно с тромбозами. Большинство пациентов с COVID-19 сообщали об одышке и снижении физической формы, что можно связать с измененным поглощением, связыванием и/или выделением кислорода при этом заболевании [2].

Информация об авторах / Information about the authors

[✉]**Кручинина Маргарита Витальевна** – д-р мед. наук, доц., вед. науч. сотр., зав. лаб. гастроэнтерологии НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН, проф. каф. пропедевтики внутренних болезней ФГБОУ ВО НГМУ. E-mail: kruchmargo@yandex.ru; ORCID: 0000-0003-0077-3823

Громов Андрей Александрович – канд. мед. наук, ст. науч. сотр. лаб. клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН. E-mail: center.5@yandex.ru; ORCID: 0000-0001-9254-4192

Кручинина Элина Владимировна – клин. ординатор ФГБОУ ВО НГМУ. E-mail: elinakruch@yandex.ru

Шишакина Юлия Александровна – студентка ФГБОУ ВО НГМУ. E-mail: july-shishakina28@yandex.ru

[✉]**Margarita V. Kruchinina** – D. Sci. (Med.), Assoc. Prof., The Institute of Internal and Preventive Medicine – a branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Prof., Novosibirsk State Medical University. E-mail: kruchmargo@yandex.ru; ORCID: 0000-0003-0077-3823

Andrei A. Gromov – Cand. Sci. (Med.), The Institute of Internal and Preventive Medicine – a branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences. E-mail: center.5@yandex.ru; ORCID: 0000-0001-9254-4192

Elina V. Kruchinina – Clinical Resident, Novosibirsk State Medical University. E-mail: elinakruch@yandex.ru

Yulia A. Shishakina – Student, Novosibirsk State Medical University. E-mail: july-shishakina28@yandex.ru

Changes in the electrical and viscoelastic parameters of erythrocytes in patients with manifestations of metabolic syndrome, COVID-19 convalescents, when exposed to citicoline in an in vitro experiment

Margarita V. Kruchinina^{✉1,2}, Andrei A. Gromov^{1,3}, Elina V. Kruchinina², Yulia A. Shishakina²

¹The Institute of Internal and Preventive Medicine – a branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia;

²Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia;

³Thrombosis Prevention Center LLC, Novosibirsk, Russia

Abstract

Aim. To study changes in the electrical and viscoelastic parameters of erythrocytes using the method of dielectrophoresis in patients with manifestations of the metabolic syndrome who underwent COVID-19, when exposed to the drug citicoline in an in vitro experiment to reduce the severity of microcirculatory disorders.

Materials and methods. 31 men were examined with manifestations of metabolic syndrome (50.6±9.9 years), COVID-19 convalescences, within 8 to 12 months after the disease, the diagnosis was confirmed by PCR, ELISA. The electrical and viscoelastic parameters of erythrocytes were studied by dielectrophoresis twice: the initial levels of indicators were determined and after 30 minutes of exposure with after 30 minutes of exposure to a solution of the drug Ronocyte (oral solution with the active substance citicoline sodium – 104.50 mg., which is equivalent to 100.00 mg citicoline at a concentration of 0.01 µl per 0.3 µl of red blood cell suspension in 0.3M sucrose solution (pH 7.36).

Results. Exposure of erythrocyte suspension of patients with Ronocyte solution led to change in the levels of electrical, viscoelastic parameters: an increase in the average cell diameter ($p=0.0003$), the proportion of discocytes ($p=0.0004$), the amplitude of cell deformation at high frequencies of the electric field ($p=0.000002$), cell capacity ($p=0.000007$), the velocity of erythrocytes to the electrodes ($p=0.003$), dipole moment ($p=0.002$), polarizability at 106 and 0.5×10^6 Hz ($p=0.000019$ and $p=0.0015$, respectively), relative polarizability ($p<0.05$) and, conversely, to reduce summarized rigidity ($p=0.000003$), viscosity ($p=0.000002$), electrical conductivity ($p<0.000001$), aggregation indices ($p=0.00003$), destruction at frequencies of 10^6 Hz ($p=0.003$), 0.5×10^6 Hz ($p=0.00002$), 0.1×10^6 Hz ($p<0.00001$), polarizability at low frequencies of the electric field ($p=0.02$). Under the influence of the drug, the equilibrium frequency of erythrocytes shifted to the low-frequency range compared to the initial values ($p<0.0000001$). The revealed changes indicate an increase in the surface charge of erythrocytes, their ability to deform, and cell resistance under the action of citicoline.

Conclusion. For the first time, the effect of the drug with the active substance citicoline, improving the rheological properties of erythrocytes, was discovered. Preparations with the active substance - citicoline should be considered promising for conducting a full-fledged clinical study to study the reduction of circulatory disorders at the microcirculatory level in patients with manifestations of metabolic syndrome who have undergone COVID-19 coronavirus infection.

Keywords: parameters, erythrocytes, dielectrophoresis, metabolic syndrome, citicoline, COVID-19

For citation: Kruchinina MV, Gromov AA, Kruchinina EV, Shishakina YuA. Changes in the electrical and viscoelastic parameters of erythrocytes in patients with manifestations of metabolic syndrome, COVID-19 convalescents, when exposed to citicoline in an in vitro experiment. *Consilium Medicum*. 2023;25(11):768–775. DOI: 10.26442/20751753.2023.11.202528

Эти явления могут быть обусловлены повреждениями бета-цепи гемоглобина или повышенным образованием метгемоглобина, который увеличивает сродство неповрежденного гемоглобина к кислороду [3, 4]. Измененный гематологический профиль, включая снижение количества эритроцитов, смещение ширины распределения эритроцитов [5], изменения в морфологии, структуре и функции клеток, может проявляться во время острой фазы инфекции и дать дополнительное объяснение описанным симптомам в постковидном периоде [6, 7]. Описано, что COVID-19 существенно влияет на реологические свойства эритроцитов [8]. Так, С. Repoux и соавт. показали, что деформируемость эритроцитов снижена, показатели агрегации увеличены, что указывает на выраженные изменения в системе микроциркуляции после заражения SARS-CoV-2 [9]. Такая картина может быть связана со структурными повреждениями белков и ремоделированием липидов мембран эритроцитов, что также может повлиять на цитоскелет, который имеет большое значение для достаточной деформируемости эритроцитов [10]. Способность клеток красной крови к деформации имеет решающее значение для снабжения кислородом на микроциркуляторном уровне и определяется отношением поверхности к объему, внутриклеточной вязкостью, эластичностью мембран [11, 12], наличием оксида азота (NO) и его биодоступностью [13]. Активность эритроцитарной NO-синтазы является одним из источников образования NO в клетках красной крови. NO эритроцитов связан с S-нитрозилированием спектринов цитоскелета и изменениями деформируемости клеток [14]. Предполагается, что влияние SARS-CoV-2 на вышеописанные факто-

ры может быть одной из причин состояния, известного как длительный COVID [15].

Поэтому поиски фармакологических средств, которые смогли бы улучшить структурно-функциональные параметры клеток красной крови у пациентов, перенесших COVID-19, являются весьма актуальными. Клиническая эффективность препарата Роноцит у пациентов, перенесших коронавирусную инфекцию COVID-19, позволила предположить наличие ранее неизвестных гемореологических эффектов.

В данном исследовании в качестве возможного препарата для оптимизации состояния эритроцитов пациентов – реконвалесцентов COVID-19 предложен цитиколин – природное соединение, содержащееся в организме. Цитиколин, являясь предшественником ключевых ультраструктурных компонентов мембран клеток (преимущественно фосфолипидов), обладает широким спектром действия: способствует восстановлению поврежденных клеточных мембран, ингибирует действие фосфолипаз, препятствуя избыточному образованию свободных радикалов, а также предотвращает гибель клеток, влияя на механизмы апоптоза [16].

Гипотеза работы состояла в том, что при воздействии цитиколина на измененные эритроциты пациентов, перенесших COVID-19, в эксперименте *in vitro* удастся обнаружить сдвиги в уровнях электрических и вязкоупругих параметров клеток красной крови с помощью метода диэлектрофореза.

Цель – изучить изменения электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов с помощью метода диэлектрофореза у пациентов с проявлениями метаболического

синдрома, перенесших COVID-19, при воздействии препарата Роноцит (цитиколин) в эксперименте *in vitro* для снижения выраженности микроциркуляторных нарушений.

Материалы и методы

Обследован 31 мужчина с проявлениями метаболического синдрома (50,6±9,9 года), реконвалесценты COVID-19, в сроки от 8 до 12 мес после перенесенного заболевания (сроки реконвалесценции обследованных находились в указанном временном промежутке, а не выбраны намеренно).

Критерии включения в исследование:

- 1) мужской пол;
- 2) возраст от 18 до 75 лет;
- 3) верифицированный диагноз COVID-19;
- 4) наличие проявлений метаболического синдрома;
- 5) отсутствие манифестирующей сопутствующей патологии в острой или в стадии обострения;
- 6) подписание информированного согласия на участие в исследовании.

Критерии исключения:

- 1) женский пол;
- 2) возраст младше 18 и старше 75 лет;
- 3) неподтвержденный диагноз COVID-19;
- 4) отсутствие проявлений метаболического синдрома;
- 5) наличие клинически значимой тяжелой сопутствующей патологии в острой или в стадии обострения (хронические инфекционно-воспалительные заболевания, почечная, дыхательная, печеночная недостаточность), известные активные онкологические заболевания;
- 6) отказ от подписания согласия на участие в исследовании.

Диагноз COVID-19 верифицирован в случае положительного результата исследования на РНК SARS-CoV-2 (с применением метода полимеразной цепной реакции) либо антиген SARS-CoV-2 (с использованием иммуноферментного анализа) вне зависимости от клинической симптоматики и/или антитела класса иммуноглобулинов (IgA, IgM и/или IgG) у пациентов с клинически подтвержденной инфекцией COVID-19 [17].

Проведение работы одобрено Комитетом биомедицинской этики НИИТТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН (протокол № 23 от 26.05.2020 г.). Обязательным для включения пациентов в исследование стало подписание информированного согласия на участие в исследовании.

Пациентам провели комплексное клинико-инструментальное обследование, в том числе изучение показателей красной крови, биохимический анализ крови.

Большая часть обследованных – 26 (83,9%) – перенесли коронавирусную инфекцию в форме острой респираторной вирусной инфекции, у 5 (16,1%) пациентов выявили поражение легких от 17 до 70% на фоне развившейся пневмонии средней степени тяжести.

Все реконвалесценты COVID-19 имели проявления метаболического синдрома: абдоминальное ожирение (окружность талии 115,7±2,6 см), гипертриглицеридемию (уровень триглицеридов 3,08±3,17 ммоль/л), снижение уровня холестерина липопротеинов высокой плотности (1,10±0,31 ммоль/л), гипергликемию (глюкоза крови натощак 7,61±2,65 ммоль/л), артериальную гипертензию (систолическое артериальное давление / диастолическое артериальное давление 145±7,5/90±4,6 мм рт. ст.).

Из 28 (90,3%) обследованных мужчин имели избыточную массу тела 8 (25,8%) человек, ожирение 1 и 2-й степени – по 9 (58%) пациентов, 3-й степени – 2 (6,5%) мужчин, индекс массы тела в среднем составил 31,6±5,12 кг/м². У 10 (32,3%) обследуемых диагностирован предиабет, в

9 (29%) случаях – сахарный диабет 2-го типа. Все пациенты систематически потребляли алкогольные напитки с частотой более раза в неделю в большей части случаев (27 человек, 87%) с разовыми (103,1±62,86 г) и недельными дозами этанола (211,0±133,8 г), являющимися токсическими, в течение в среднем 12,6±5,9 года.

По данным ультразвукового исследования органов брюшной полости у пациентов выявили наличие жировой болезни печени. Степень выраженности фиброза печени установлена методом транзитной эластографии на аппарате FibroScan® 502 Echosens (Франция) с разграничением стадии фиброза по шкале METAVIR от F0 до F4. У всех обследованных она не превышала 1-й степени.

При анализе печеночных проб величин показателей трансаминаз, билирубина, сывороточного железа, альбумина находились в границах референтных значений. Лишь активность γ -глутамилтранспептидазы превышала верхнюю границу нормы (57,9±46,2 Ед/л), отражая факт систематического потребления алкоголя. Отмечена тенденция к снижению уровня общего белка (69,4±4,0 г/л).

Таким образом, среди обследованных пациентов, реконвалесцентов COVID-19, преобладали лица с проявлениями метаболического синдрома, систематически потребляющие алкоголь в токсических дозах с наличием признаков стеатоза печени или стеатогепатита минимальной биохимической активности с невыраженным фиброзом печени.

У всех обследованных изучены электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов методом диэлектрофореза в неоднородном переменном электрическом поле (НПЭП) с помощью электрооптической системы детекции клеток [18]. Оценивали средний диаметр (мкм), доли дискоцитов, сфероцитов, деформированных клеток (%), поляризуемость клеток на разных частотах диапазона (м³), относительную поляризуемость (соотношение величины показателя на 10⁶ к 10⁵ Гц), обобщенные показатели жесткости (Н/м), вязкости (Па·с), электропроводности мембран (См/м), индексы деструкции (на разных частотах диапазона, %) и агрегации (усл. ед.), амплитуду деформации эритроцитов на частоте 10⁶ Гц (м), степень деформации клеток на частоте 5×10⁵ Гц (%), емкость мембран эритроцитов (Ф), скорость движения клеток к электродам (мкм/с), положение равновесной частоты (Гц), величину дипольного момента (Кл·м). Распознавание образа клеток и компьютерная обработка данных произведены с применением пакета оригинальных программ CELLFIND. Ошибка воспроизводимости метода составила 7–12%.

Определение показателей эритроцитов провели дважды: установлены начальные уровни показателей красной крови и значения этих же характеристик через 30 мин экспозиции с раствором препарата Роноцит (раствор для приема внутрь с активным веществом – цитиколином натрия 104,50 мг, что эквивалентно 100,00 мг цитиколина)* в концентрации 0,01 мкл на 0,3 мкл взвеси эритроцитов в 0,3М растворе сахарозы; pH 7,36 (0,29 мкл 0,3М раствора сахарозы + 0,01 мкл цельной тощаковой крови пациента, взятой из вены) [18]. Поскольку количество эритроцитов в крови на три порядка превышает таковое для лейкоцитов и тромбоцитов (10¹²/л против 10⁹/л), метод диэлектрофореза дает возможность исследовать именно клетки красной крови. Дозировка препарата, использованная в эксперименте, соответствовала аналогичной допустимой дозе препарата при внутривенном применении.

Статистическую обработку данных проводили при помощи программы IBM SPSS Statistics (версия 26.0). Характер распределения количественных показателей проверяли критерием Колмогорова–Смирнова. При нормальном распределении данные представлены в виде средних значений

*«World Medicine Ilac San. Ve Tic. A.S.», Турция.

Таблица 1. Показатели красной крови у пациентов – реконвалесцентов COVID-19 (M±SD)

Показатели	Группа реконвалесцентов COVID-19, n=31	Референтные значения
Количество эритроцитов, $\times 10^{12}/л$	4,62±0,47	3,80–5,80
Уровень гемоглобина, г/л	139,4±14,6	130–160
Цветовой показатель, пг	0,912±0,053	0,85–1,15
СОЭ, мм/ч	15,34±9,34	1–10
Гематокрит, %	30,22±2,15	40,7–50,3
Средний корпускулярный объем эритроцита, фл	92,63±4,72	78–94
Среднее содержание гемоглобина в эритроците, пг	30,22±2,15	26–32
Средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах, г/л	326,23±14,69	320–360
Ширина распределения эритроцитов по объему, %	14,03±0,95	10–15

Примечание. СОЭ – скорость оседания эритроцитов.

и стандартного отклонения (M±SD), при отсутствии нормального распределения – в виде медианы и 25 и 75% квартилей (Me [Q1; Q3]). Категориальные признаки представлены в виде абсолютных и относительных значений n (%). При сравнении двух нормально распределенных выборок использовался t-тест Стьюдента, при отсутствии нормального распределения для сравнения количественных параметров применялся непараметрический метод Вилкоксона, для качественных показателей использован метод Мак-Неймара. Критический уровень значимости определялся при $p < 0,05$.

Результаты

При изучении показателей красной крови с использованием стандартных методов оказалось, что большая часть не выходила за рамки референтных значений. Вместе с тем установлены более низкие уровни гематокрита и более высокие – скорости оседания эритроцитов у пациентов, перенесших COVID-19 (табл. 1).

В табл. 2 и 3 представлены результаты эксперимента *in vitro* с раствором цитиколина. Под воздействием препарата отмечено увеличение среднего диаметра клеток ($p=0,0003$), возросла доля дискоцитарных ($p=0,0004$) и снизились доли сфероцитарных, деформированных эритроцитов ($p=0,00003$). Установлено увеличение деформируемости клеток на высоких частотах НПЭП: на частоте 10^6 Гц $p=0,000002$, на частоте $0,5 \times 10^6$ Гц степень деформации клеток возросла примерно на 30%. Отмечено статистически значимое снижение обобщенных показателей жесткости ($p=0,000003$) и вязкости клеток ($p=0,000002$) после экспозиции с раствором цитиколина. Емкость клеточной мембраны эритроцитов в процессе проведения эксперимента оказалась выше ($p=0,000007$), а способность мембран проводить электрический ток – ниже ($p < 0,000001$). Выявлено изменение показателей, ассоциированных с величиной отрицательного поверхностного заряда эритроцитов: после воздействия цитиколина установлено повышение скорости движения клеток к электродам ($p=0,003$), величины дипольного момента ($p=0,002$) и снижение индекса агрегации эритроцитов ($p=0,00003$). Воздействие препарата привело к смещению равновесной частоты в низкочастотный диапазон ($p=0,000001$).

Таблица 2. Электрические и вязкоупругие показатели эритроцитов в группе пациентов – реконвалесцентов COVID-19 до и после экспозиции с цитиколином (Me [25%; 75%])

Показатели	Пациенты – реконвалесценты COVID-19 до экспозиции с цитиколином, n=31	Пациенты – реконвалесценты COVID-19 после экспозиции с цитиколином, n=31	p
Средний диаметр эритроцита, мкм	7,52 [7,50; 7,54]	7,56 [7,54; 7,56]	0,0003
Доля дискоцитов, %	67,2 [59,4; 73,5]	78,3 [64,8; 82,1]	0,0004
Доля сфероцитов, %	31,7 [24,5; 35,1]	18,1 [16,9; 27,3]	0,0002
Доля деформированных клеток, %	29,1 [23,4; 32,8]	14,9 [11,7; 18,8]	0,00003
Амплитуда деформации на частоте 10^6 Гц, м	$6,3 \times 10^{-6}$ [$5,82 \times 10^{-6}$; $6,57 \times 10^{-6}$]	$7,7 \times 10^{-6}$ [$7,17 \times 10^{-6}$; $7,8 \times 10^{-6}$]	0,000002
Степень изменения амплитуды деформации на частоте $0,5 \times 10^6$ Гц, %	40,5 [32,5; 48,8]	70 [63,8; 73,3]	0,002
Обобщенный показатель жесткости, Н/м	$9,51 \times 10^{-6}$ [$9,25 \times 10^{-6}$; $9,84 \times 10^{-6}$]	$8,34 \times 10^{-6}$ [$8,23 \times 10^{-6}$; $8,64 \times 10^{-6}$]	0,000003
Обобщенный показатель вязкости, Па·с	0,72 [0,71; 0,75]	0,64 [0,62; 0,67]	0,000002
Емкость клеточной мембраны, Ф	$2,81 \times 10^{-14}$ [$1,45 \times 10^{-14}$; $4,99 \times 10^{-14}$]	$6,88 \times 10^{-14}$ [$5,68 \times 10^{-14}$; $8,15 \times 10^{-14}$]	0,000007
Электропроводность клеток, См/м	$8,62 \times 10^{-5}$ [$5,69 \times 10^{-5}$; $9,12 \times 10^{-5}$]	$5,57 \times 10^{-5}$ [$5,43 \times 10^{-5}$; $5,69 \times 10^{-5}$]	0,000001
Скорость движения эритроцитов к электродам, мкм/с	3,7 [3,0; 4,2]	5,1 [4,6; 5,5]	0,003
Положение равновесной частоты, Гц	$0,81 \times 10^6$ [$0,40 \times 10^6$; $1,26 \times 10^6$]	$0,385 \times 10^6$ [$0,29 \times 10^6$; $0,45 \times 10^6$]	0,0000001
Дипольный момент, Кл·жм	$4,1 \times 10^{-21}$ [$3,42 \times 10^{-21}$; $5,1 \times 10^{-21}$]	$6,95 \times 10^{-21}$ [$6,47 \times 10^{-21}$; $7,93 \times 10^{-21}$]	0,002
Индекс агрегации эритроцитов, условный коэффициент	0,685 [0,64; 0,738]	0,635 [0,60; 0,66]	0,00003

Таблица 3. Уровни индекса деструкции эритроцитов (M±SD) и показателей поляризуемости в группе пациентов – реконвалесцентов COVID-19 до и после экспозиции с цитиколином (Me [25%; 75%])

Показатели	Пациенты – реконвалесценты COVID-19 до экспозиции с цитиколином, n=31	Пациенты – реконвалесценты COVID-19 после экспозиции с цитиколином, n=31	p
Индекс деструкции эритроцитов на частоте 10^6 Гц, %	0,474±1,187	0,09±0,01	0,003
Индекс деструкции эритроцитов на частоте $0,5 \times 10^6$ Гц, %	0,538±1,202	0,032±0,179	0,00002
Индекс деструкции эритроцитов на частоте $0,1 \times 10^6$ Гц, %	0,661±1,72	0,061±0,341	0,00001
Индекс деструкции эритроцитов на частоте $0,5 \times 10^5$ Гц, %	0,448±1,23	0,100±0,397	0,462
Поляризуемость на частоте 10^6 Гц, м ³	$0,886 \times 10^{-15}$ [$0,403 \times 10^{-15}$; $1,5 \times 10^{-15}$]	$2,11 \times 10^{-15}$ [$1,43 \times 10^{-15}$; $3,59 \times 10^{-15}$]	0,000019
Поляризуемость на частоте $0,5 \times 10^6$ Гц, м ³	$0,717 \times 10^{-15}$ [$0,432 \times 10^{-15}$; $1,32 \times 10^{-15}$]	$1,87 \times 10^{-15}$ [$1,04 \times 10^{-15}$; $2,78 \times 10^{-15}$]	0,0015
Поляризуемость на частоте $0,1 \times 10^6$ Гц, м ³	$-1,45 \times 10^{-15}$ [$-0,756 \times 10^{-15}$; $-2,12 \times 10^{-15}$]	$-2,72 \times 10^{-15}$ [$-1,45 \times 10^{-15}$; $-3,77 \times 10^{-15}$]	0,02
Поляризуемость на частоте $0,05 \times 10^6$ Гц, м ³	$-0,864 \times 10^{-15}$ [$-0,528 \times 10^{-15}$; $-1,71 \times 10^{-15}$]	$-1,91 \times 10^{-15}$ [$-1,24 \times 10^{-15}$; $-2,45 \times 10^{-15}$]	0,018
Относительная поляризуемость	0,635 [0,293; 1,362]	1,12 [0,683; 1,775]	0,05

Обсуждение

Для установления изменения параметров клеток красной крови под влиянием цитиколина использовали метод диэлектрофореза, предполагающий воздействие на эритроциты, находящиеся в растворе диэлектрика, НПЭП с разными частотами, что позволяет моделировать наличие стресса разной интенсивности. Изучение электрических и вязкоупругих характеристик эритроцитов с помощью измерительно-вычислительного комплекса детекции клеток обеспечивает в течение короткого времени получение более 20 параметров, отражающих структурно-функциональное состояние клеток [18]. Одни из них ассоциированы с уровнем поверхностного отрицательного заряда эритроцитов (скорость движения клеток к электродам, дипольный момент, индекс агрегации, доля деформированных клеток), другие отражают состояние мембран (электропроводность, емкость), третьи позволяют оценить как состояние мембран, так и внутреннего содержимого эритроцита (амплитуда деформации, обобщенные показатели вязкости, жесткости), часть показателей дает информацию о резистентности клеток красной крови и их способности к адаптации (поляризуемость, индексы деструкции) [18]. Ранее показано, что применение метода диэлектрофореза дает возможность оценить воздействие различных факторов на эритроциты, включая вирусы, наночастицы, химические соединения, поскольку вышеописанные показатели эритроцитов чувствительны к влиянию различных агентов [19–22]. Данный метод позволяет оценивать гемореологические характеристики клеток крови, влияющие на микроциркуляторное кровообращение [22]. Преимуществом предложенного подхода к изучению показателей красной крови является то, что исследуемые характеристики эри-

троцитов изменяются в более ранние сроки, чем традиционно исследуемые индексы, кроме того, они позволяют оценить функциональные параметры клеток, которые недоступны в рутинной клинической практике.

Цитиколин представляет собой экзогенную форму цитидин-5'-дифосфохолина – важнейшего промежуточного вещества в образовании фосфатидилхолина [23]. Основу цитидин-5'-дифосфохолина составляют рибоза, пиррофосфат, цитозин и холин. Цитидин, являясь компонентом РНК в цитоплазме, метаболизируется в цитидинтрифосфат. Холин под действием холинкиназы фосфорилируется до фосфорилилхолина, который в последующем превращается в цитиколин. Дальнейшее взаимодействие цитиколина с диацилглицерином в присутствии холин-фосфотрансферазы приводит к образованию фосфатидилхолина [24, 25]. Снижая, но не подавляя активность фосфолипазы А₂, цитиколин восстанавливает содержание арахидоновой кислоты фосфатидилхолина, что обеспечивает стабилизацию мембран. Таким образом, воздействие цитиколина связано с процессами репарации в биологических мембранах.

Стабилизация мембраны ассоциирована с увеличением скорости связывания супероксиддисмутазы с субстратами и нарастанием ее активности [25]. Способствуя накоплению на клеточной мембране α-токоферола (ключевого ферментного компонента антиоксидантной системы), цитиколин приводит к уменьшению образования жирнокислотных гидропероксидов и соответствующих пероксильных радикалов, которые принимают участие в образовании окислительно-модифицированных фосфолипидов (oxPL) [26]. OxPL повреждают структуру мембранных ионных каналов, содействуя неконтролируемому входу в клетки ионов кальция и натрия (Ca²⁺ и Na⁺), активации

NO-синтазы, образованию активных форм кислорода и активации сигнальной системы внутри клеток. Стимуляция последней и ингибирование протеасом являются причинами клеточной смерти [24, 27].

Наряду с этим охPL приводят к презентации молекул клеточной адгезии (ICAM-1), молекул клеточной адгезии сосудистого эндотелия (VCAM-1) и E-селектина на поверхности клеток эндотелия, к адгезии нейтрофилов, агрегации тромбоцитов, что ассоциировано с развитием воспаления. Показано, что цитиколин проявляет антиоксидантные свойства, блокируя продукцию охPL путем подавления активации фосфолипазы A₂ и восстановления активности митохондриальной и мембранной натрий-калиевой (Na⁺/K⁺) аденозинтрифосфатазы. Холин, высвобождающийся из цитиколина, может метаболизироваться до глутатиона (GSH) – одного из ключевых эндогенных антиоксидантных компонентов защиты, который производит удаление H₂O₂, липидных пероксидов и предотвращает инактивацию глутатионредуктазы (GSSG) [28].

Вероятно, изменение структуры и функции мембран клеток красной крови под действием цитиколина привело к снижению электропроводности, повышению емкости, скорости движения клеток к электродам, дипольного момента.

Стабилизация состояния мембран эритроцитов ассоциирована со снижением высвобождения микровезикул, обладающих агрегационным потенциалом. Уменьшение продукции микровезикул на фоне терапии цитиколином пациентов с церебральной малярией показано в экспериментах на мышах F. El-Assaad и соавт. [29]. Возможно, данный механизм, наряду с изменением в фосфолипидном составе мембран, повлиял на снижение индекса агрегации эритроцитов в настоящем исследовании.

Показано, что цитиколин повышает устойчивость эритроцитов к напряжениям, вызванным гипотонической средой или стрессовыми влияниями, поскольку это снижает оптимизирует структурную целостность плазматических мембран многих типов клеток [30]. I. Wahhab и соавт. в эксперименте *in vitro* продемонстрировали, что экспозиция с цитиколином эритроцитов пациентов с гемолитическими состояниями приводила к повышению осмотической резистентности клеток [31], что подтверждено другими исследователями [32]. Авторы предположили, что происходит встраивание компонентов препарата в мембраны клеток красной крови, обеспечивая им гибкость и прочность и предотвращая гемолиз. Вероятно, подобный механизм реализовался и в настоящей работе, следствием чего оказалось увеличение показателей поляризуемости эритроцитов и снижение гемолиза на всех частотах НПЭП.

Однако эффект препарата может реализовываться через мускариновые рецепторы типа M1, которые обнаружены с высокой плотностью на поверхности эритроцитов [33], и ранних предшественников эритроидов в костном мозге [34]. Показано, что взаимодействие ненейронального ацетилхолина с данными рецепторами способно модулировать гемореологические свойства эритроцитов человека [35]. J. de Almeida и соавт. продемонстрировали, что многочисленные физиологические процессы эритроцитов в микроциркуляции в значительной степени регулируются ацетилхолином, включая реологию, концентрацию ионов в плазме, внутриклеточную транслокацию и метаболизм NO, фосфорилирование белка полосы 3 мембран клеток красной крови [33]. F. Carvalho и соавт. протестировали влияние ацетилхолина и холина на метаболиты NOx, а именно нитриты и нитраты, и наблюдали, зависят ли они от взаимодействия с мускариновыми рецепторами и ацетилхолинэстеразой мембран эритроцитов. Показано, что ацетилхолин или холин повышали контрольные концентрации NOx ($p < 0,001$). Эти результаты продемонстрировали, что ацетилхолин и холин модулируют уровень метаболитов NO в эритроцитах, и этот эффект опосредован взаимодействиями с мускарино-

выми рецепторами мембраны эритроцитов и мембранным ферментом ацетилхолинэстеразой [36], при этом конформационные состояния ацетилхолинэстеразы влияли на мобилизацию NO в эритроците [37].

Е.В. Курьянова и соавт. показали, что величины M-холинореактивности эритроцитов могут рассматриваться как связующее звено между регуляторными влияниями на эритроциты и биохимическими, в том числе свободнорадикальными, процессами в системе «эритроциты – плазма крови» [38]. Связывание соответствующих лигандов с этими рецепторами способно влиять на свойства эритроцитов (осмотическую резистентность, скорость агглютинации и др.) [39, 40].

Спектриновые фибриллы, основной белковый компонент цитоскелета эритроцитов, соединяются друг с другом узлами актиновых филаментов с образованием эластичной сети под мембраной эритроцитов. Цистеиновые остатки спектринов являются мишенями для обратимой окислительной модификации, такой как сульфеновая (-SOH), за которой следует более окислительное образование сульфиновой (-SO₂H) и сульфоновой (-SO₃H) кислот при продолжающемся окислительном стрессе, что впоследствии вызывает снижение деформируемости эритроцитов [41]. Однако NO⁺ нитрозирует чувствительные тиолы, защищая остатки цистеина от дальнейшего окисления (глутатионовая шапочка). Эритроциты продуцируют сероводород (H₂S) с последующей S-сульфгидратацией и образованием полисульфидных (-S-SH) групп на остатках цистеина. Предполагается, что он может защищать остатки цистеина от окисления, повышая уровни клеточных антиоксидантов и снижая уровни активных форм кислорода [42], а также повышать биодоступность NO, приводя к S-нитрозированию остатков цистеина в эритроцитах [43]. Влияние компонентов препарата цитиколина на метаболиты NO через описанный механизм может быть ассоциировано с повышением амплитуды деформации клеток и снижением их обобщенных показателей вязкости и жесткости, уровня деформированных клеток.

Мультифакториальный характер патогенеза коронавирусной инфекции и метаболического синдрома предрасполагает к полипрагмазии в терапии. Применение препаратов, направленных на несколько патогенетических звеньев одновременно, позволяет проводить терапию, избегая полипрагмазии. Риноцит может войти в число таких препаратов. В данной работе впервые показано восстановление нарушенных реологических свойств эритроцитов под влиянием цитиколина. Изменения реологических свойств эритроцитов во многом определяют развитие нарушений кровообращения у пациентов, перенесших коронавирусную инфекцию, и пациентов с метаболическим синдромом [22]. Коррекция нарушений кровообращения в данном случае направлена на патогенетически значимые нарушения. Возможность коррекции нарушений кровообращения цитиколином, при ее подтверждении, может открыть перспективы для расширения терапии сосудистых заболеваний. Существенное снижение гемолиза эритроцитов под влиянием цитиколина позволяет предполагать возможность его использования в терапии соматических и инфекционных патологий, сопровождающихся гемолизом и цитолизом клеток.

В течение нескольких десятилетий цитиколин активно используется для борьбы с когнитивными нарушениями различного генеза, включая сосудистые формы деменции и болезнь Альцгеймера, для терапии пациентов, перенесших инсульт и черепно-мозговую травму. В настоящее время опубликовано несколько сотен исследовательских работ, анализирующих действие цитиколина у пациентов и в экспериментальных моделях. Цитиколин снижает проницаемость микрососудов, усиливает мозговой кровоток, митохондриальное дыхание клеток мозга, синтез АТФ, способствует восстановлению гематоэнцефалического

барьера и уменьшению отека мозга, уменьшению размера ишемических очагов, ингибирует апоптоз нейронов [44]. Применение цитиколина уменьшало гибель и усиливало репарацию центральных нейронов и периферических нервов, предотвращая возникновение невропатической боли [44, 45], усиливало раннюю ремиелинизацию, увеличивало количество олигодендроцитов. Испытания влияния цитиколина предлагают провести у пациентов с рассеянным склерозом [46]. Его успешное использование отмечают при лечении лицевого неврита, эпилепсии, головокружения, тяжелого депрессивного расстройства, шизофрении [44]. Цитиколин улучшает зрительные функции у пациентов с глаукомой и с амблиопией [47].

Заключение

Таким образом, экспозиция взвеси эритроцитов пациентов с проявлениями метаболического синдрома, реконвалесцентом COVID-19, с раствором препарата Ронцит в течение 30 мин *in vitro* привела к статистически значимому изменению уровней электрических, вязкоупругих параметров эритроцитов: увеличению среднего диаметра клеток ($p=0,0003$), доли дискоцитов ($p=0,0004$), амплитуды деформации клеток на высоких частотах НПЭП ($p=0,000002$), емкости ($p=0,000007$), скорости движения эритроцитов к электродам ($p=0,003$), дипольного момента ($p=0,002$), поляризуемости на 10^6 и $0,5 \times 10^6$ Гц ($p=0,000019$ и $p=0,0015$ соответственно), относительной поляризуемости ($p<0,05$) и, напротив, к снижению обобщенных жесткости ($p=0,000003$), вязкости ($p=0,000002$), электропроводности ($p<0,000001$), индексов агрегации ($p=0,00003$), деструкции на частотах 10^6 Гц ($p=0,003$), $0,5 \times 10^6$ Гц ($p=0,00002$), $0,1 \times 10^6$ Гц ($p<0,00001$), поляризуемости на низких частотах НПЭП ($p=0,02$). Под воздействием препарата произошло смещение равновесной частоты эритроцитов в низкочастотный диапазон по сравнению с начальными величинами ($p<0,0000001$). Выявленные изменения свидетельствуют о повышении поверхностного заряда эритроцитов, их способности к деформации, резистентности клеток под действием цитиколина.

Впервые обнаружен эффект цитиколина, улучшающий реологические свойства эритроцитов и уменьшающий выраженность гемолиза. Данный препарат следует считать перспективным для проведения клинического исследования по изучению коррекции нарушений кровообращения на микроциркуляторном уровне у пациентов с проявлениями метаболического синдрома, перенесших коронавирусную инфекцию COVID-19.

Раскрытие интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Disclosure of interest. The authors declare that they have no competing interests.

Вклад авторов. Авторы декларируют соответствие своего авторства международным критериям ICMJE. Все авторы в равной степени участвовали в подготовке публикации: разработка концепции статьи, получение и анализ фактических данных, написание и редактирование текста статьи, проверка и утверждение текста статьи.

Authors' contribution. The authors declare the compliance of their authorship according to the international ICMJE criteria. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

Источник финансирования. Работа выполнена по Государственному заданию в рамках бюджетных тем FWNR-2022-0024, FWNR-2023-0003.

Funding source. The study was carried out as a part of the state assignment within the framework of budget themes FWNR-2022-0024, FWNR-2023-0003.

Информированное согласие на публикацию. Пациенты подписали форму добровольного информированного согласия на публикацию медицинской информации.

Consent for publication. Written consent was obtained from the patients for publication of relevant medical information and all of accompanying images within the manuscript.

Соответствие принципам этики. Проведение работы одобрено Комитетом биомедицинской этики НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН (протокол №23 от 26.05.2020). Одобрение и процедуру проведения протокола получали по принципам Хельсинкской конвенции.

Ethics approval. The study was approved by the local ethics committee of The Institute of Internal and Preventive Medicine – a branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (№23 dated May 26, 2020). The approval and procedure for the protocol were obtained in accordance with the principles of the Helsinki Convention.

Литература/References

- Hu B, Guo H, Zhou P, Shi ZL. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nat Rev Microbiol.* 2021;19(3):141-54. DOI:10.1038/s41579-020-00459-7
- Abdel-Gawad M, Zaghoul MS, Abd-Elsalam S, et al. Post-COVID-19 Syndrome Clinical Manifestations: A Systematic Review. *Antiinflamm Antiallergy Agents Med Chem.* 2022;21(2):115-20. DOI:10.2174/1871523021666220328115818
- Böning D, Kuebler WM, Bloch W. The oxygen dissociation curve of blood in COVID-19. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2021;321(2):L349-57. DOI:10.1152/ajplung.00079.2021
- Wenzhong L, Hualan L. COVID-19: Attacks the 1-beta chain of hemoglobin and captures the porphyrin to inhibit human heme metabolism. *ChemRxiv. Preprint.* 2020. DOI:10.26434/chemrxiv.11938173
- Lu G, Wang J. Dynamic changes in routine blood parameters of a severe COVID-19 case. *Clin Chim Acta.* 2020;508:98-102. DOI:10.1016/j.cca.2020.04.034
- Gérard D, Brahim SB, Lesesve JF, Perrin J. Are mushroom-shaped erythrocytes an indicator of COVID-19? *Br J Haematol.* 2021;192(2):230. DOI:10.1111/bjh.17127
- Gagiannis D, Umatham VG, Bloch W, et al. Antemortem vs Postmortem Histopathologic and Ultrastructural Findings in Paired Transbronchial Biopsy Specimens and Lung Autopsy Samples From Three Patients With Confirmed SARS-CoV-2. *Am J Clin Pathol.* 2022;157(1):54-63. DOI:10.1093/ajcp/aqab087
- Kubánková M, Hohberger B, Hoffmanns J, et al. Physical phenotype of blood cells is altered in COVID-19. *Biophys J.* 2021;120(14):2838-47. DOI:10.1016/j.bpj.2021.05.025
- Renoux C, Fort R, Nader E, et al. Impact of COVID-19 on red blood cell rheology. *Br J Haematol.* 2021;192(4):e108-11. DOI:10.1111/bjh.17306
- Thomas T, Stefanoni D, Dzieciatkowska M, et al. Evidence of Structural Protein Damage and Membrane Lipid Remodeling in Red Blood Cells from COVID-19 Patients. *J Proteome Res.* 2020;19(11):4455-69. DOI:10.1021/acs.jproteome.0c00606
- McMahon TJ. Red Blood Cell Deformability, Vasoactive Mediators, and Adhesion. *Front Physiol.* 2019;10:1417. DOI:10.3389/fphys.2019.01417
- Barshtein G, Gural A, Arbell D, et al. Red Blood Cell Deformability Is Expressed by a Set of Interrelated Membrane Proteins. *Int J Mol Sci.* 2023;24(16):12755. DOI:10.3390/ijms241612755
- D'Alessandro A, Anastasiadi AT, Tzounakas VL, et al. Red Blood Cell Metabolism In Vivo and In Vitro. *Metabolites.* 2023;13(7):793. DOI:10.3390/metabo13070793
- Kobayashi J, Ohtake K, Murata I, Sonoda K. Nitric oxide bioavailability for red blood cell deformability in the microcirculation: A review of recent progress. *Nitric Oxide.* 2022;129:25-9. DOI:10.1016/j.niox.2022.09.004
- Russo A, Tellone E, Barreca D, et al. Implication of COVID-19 on Erythrocytes Functionality: Red Blood Cell Biochemical Implications and Morpho-Functional Aspects. *Int J Mol Sci.* 2022;23(4):2171. DOI:10.3390/ijms23042171
- Афанасьев В.В. Клиническое применение цитиколина и его роль в гомеостазе клеточных мембран нейронов и органов-эффекторов. *Трудный пациент.* 2009;7(11):26-32 [Afanasyev VV. Clinical application of citicoline and its role in homeostasis of cell membranes of neurons and effector organs. *A Difficult Patient.* 2009;7(11):26-32 (in Russian)].
- Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19): Временные методические рекомендации. Версия 7 (03.06.2020). Утв. Министерством здравоохранения РФ. М., 2020. Режим доступа: https://medprint.ru/documents/user/MR_COVID-19_v7.pdf. Ссылка активна на 10.12.2022 [Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19): Vremennyye metodicheskie rekomendatsii. Versiya 7 (03.06.2020). Utv. Ministerstvom zdoravookhraneniya RF. Moscow, 2020. Available at: https://medprint.ru/documents/user/MR_COVID-19_v7.pdf. Accessed: 10.12.2022 (in Russian)].
- Генералов В.М., Кручинина М.В., Громов А.А., Шувалов Г.В. Диэлектрофорез в биологии и медицине: учебное пособие. Новосибирск: Изд-во НГТУ, 2017. [Generalov VM, Kruchinina MV,

- Gromov AA, Shuvalov GV. Dielektroforez v biologii i meditsine: uchebnoe posobie. Novosibirsk: Izd-vo NGTU, 2017 (in Russian)].
19. Кручинина М.В., Паруликова М.В., Громов А.А., и др. Острое воздействие этанола на эритроциты in vitro: новый подход к дифференциальной диагностике жировой болезни печени. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2019;(12):122-34 [Kruchinina MV, Parulikova MV, Gromov AA, et al. Acute ethanol effect on erythrocytes in vitro: a new approach to differential diagnostics of fatty liver disease. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2019;(12):122-34 (in Russian)]. DOI:10.31146/1682-8658-ecg-172-12-122-134
 20. Кручинина М.В., Громов А.А., Генералов В.М., и др. Влияние омега-3 полиненасыщенных жирных кислот на электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов в эксперименте in vitro у пациентов с болезнью Крона в стадии обострения. *Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия: Естественные и технические науки*. 2021;(12-2):72-84 [Kruchinina MV, Gromov AA, Generalov VM, et al. The effect of omega-3 polyunsaturated fatty acids on the electrical and viscoelastic parameters of erythrocytes in an in vitro experiment in patients with acute Crohn's disease. *Modern Science: Actual Problems of Theory and Practice. Series: Natural and Technical Sciences*. 2021;(12-2):72-84 (in Russian)]. DOI:10.37882/2223-2966.2021.12-2.06
 21. Кручинина М.В., Громов А.А., Генералов В.М., Кручинина Э.В. Действие цитофлавина на эритроциты пациентов, перенесших COVID-19, в условиях in vitro. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2022;85(10):14-25 [Kruchinina MV, Gromov AA, Generalov VM, Kruchinina EV. The effect of cytoflavin on the erythrocytes of patients who underwent COVID-19 in vitro. *Experimental and Clinical Pharmacology*. 2022;85(10):14-25 (in Russian)]. DOI:10.30906/0869-2092-2022-85-10-14-25
 22. Кручинина М.В., Громов А.А., Генералов В.М., Кручинина Э.В. Эритроциты: роль в развитии нарушений микроциркуляции и гемостаза. Новосибирск: Офсет-ТМ, 2022 [Kruchinina MV, Gromov AA, Generalov VM, Kruchinina EV. Eritrotsity: rol' v razvitiі narushenii mikrotsirkulatsii i gemostaza. Novosibirsk: Ofset-TM, 2022 (in Russian)].
 23. Dávalos A, Secades J. Citicoline preclinical and clinical update 2009–2010. *Stroke*. 2011;42(1 Suppl.):S36-9. DOI:10.1161/STROKEAHA.110.605568
 24. Tran NKS, Trinh TA, Pyo J, et al. Neuroprotective Potential of Pyranocoumarins from *Angelica gigas* Nakai on Glutamate-Induced Hippocampal Cell Death. *Antioxidants (Basel)*. 2023;12(8):1651. DOI:10.3390/antiox12081651
 25. Huang Y, He Q, Zhan L. The effects of CDP-Choline on the improvement of the successful rate of cardiopulmonary resuscitation and post-resuscitation cardiac function. *Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue*. 2013;25(2):80-3 [Article in Chinese]. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2013.02.007
 26. Quinn PJ. The effect of tocopherol on the structure and permeability of phosphatidylcholine liposomes. *J Control Release*. 2012;160(2):158-63. DOI:10.1016/j.jconrel.2011.12.029
 27. Chaudhary P, Janmeda P, Docea AO, et al. Oxidative stress, free radicals and antioxidants: potential crosstalk in the pathophysiology of human diseases. *Front Chem*. 2023;11:1158198. DOI:10.3389/fchem.2023.1158198
 28. Roy P, Tomassoni D, Nittari G, et al. Effects of choline containing phospholipids on the neurovascular unit: A review. *Front Cell Neurosci*. 2022;16:988759. DOI:10.3389/fncel.2022.988759
 29. El-Assaad F, Combes V, Grau GE, Jambou R. Potential efficacy of citicoline as adjunct therapy in treatment of cerebral malaria. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58(1):602-5. DOI:10.1128/AAC.02591-12
 30. Drescher S, van Hoogevest P. The Phospholipid Research Center: Current Research in Phospholipids and Their Use in Drug Delivery. *Pharmaceutics*. 2020;12(12):1235. DOI:10.3390/pharmaceutics12121235
 31. Wahhab IAA, Sarmad NG, Kadhim HA. Assessment of RBCs membrane protective activity of citicoline and eicosapentanoic-decosahexanoic acid in osmotic fragility model. *Al-Qadisiya Medical Journal*. 2014;10(18):118-21.
 32. Pathan AB, Dojjad RC, Baraskar SS, et al. Therapeutic Applications of Citicoline and Methylcobalamin Combination. *Advance Research in Pharmaceuticals and Biologicals*. 2012;2(3):242-9.
 33. De Almeida JP, Saldanha C. Nonneuronal cholinergic system in human erythrocytes: biological role and clinical relevance. *J Membr Biol*. 2010;234(3):227-34. DOI:10.1007/s00232-010-9250-9
 34. Trivedi G, Inoue D, Chen C, et al. Muscarinic acetylcholine receptor regulates self-renewal of early erythroid progenitors. *Sci Transl Med*. 2019;11(511):eaaw3781. DOI:10.1126/scitranslmed.aaw3781
 35. Gupta S, Belle VS, Kumbharakeri Rajashekhar R, et al. Correlation of Red Blood Cell Acetylcholinesterase Enzyme Activity with Various RBC Indices. *Indian J Clin Biochem*. 2018;33(4):445-9. DOI:10.1007/s12291-017-0691-0
 36. Carvalho FA, Mesquita R, Martins-Silva J, Saldanha C. Acetylcholine and choline effects on erythrocyte nitrite and nitrate levels. *J Appl Toxicol*. 2004;24(6):419-27. DOI:10.1002/jat.993
 37. Teixeira P, Duro N, Napoleão P, Saldanha C. Acetylcholinesterase conformational states influence nitric oxide mobilization in the erythrocyte. *J Membr Biol*. 2015;248(2):349-54. DOI:10.1007/s00232-015-9776-y
 38. Курьянова Е.В., Трясучев А.В., Теплый Д.Л. Адreno-, холинореактивность эритроцитов и оценка их сопряженности с показателями свободнорадикального баланса крови у нелинейных крыс. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2019;39(4):37-45 [Kuryanova EV, Tryasuchev AV, Teply DL. Adreno- and cholinoreactivity of erythrocytes and estimation of their conjugation with parameters of free radical balance of blood in non-linear rats. *Siberian Scientific Medical Journal*. 2019;39(4):37-45 (in Russian)]. DOI:10.15372/SSMJ20190405
 39. Стрельникова А.И., Циркин В.И., Крысова А.В., и др. М-холинореактивность эритроцитов небеременных и беременных женщин, определяемая по изменению скорости агглютинации эритроцитов под влиянием ацетилхолина. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2012;154(8):140-3 [Strelnikova AI, Tsikin VI, Krysova AB, et al. M-holinoreactivity of erythrocytes of non-pregnant and pregnant women, determined by the change in the rate of agglutination of erythrocytes under the influence of acetylcholine. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2012;154(8):140-3 (in Russian)].
 40. Zyubanova IV, Falkovskaya AYU, Mordovin VF, et al. Erythrocyte membranes beta-adrenoreactivity changes after renal denervation in patients with resistant hypertension, relationship with antihypertensive and cardioprotective intervention efficacy. *Kardiologiya*. 2021;61(8):32-9 [Article in English, English]. DOI:10.18087/cardio.2021.8.n1556
 41. Diederich L, Suvorova T, Sansone R, et al. On the Effects of Reactive Oxygen Species and Nitric Oxide on Red Blood Cell Deformability. *Front Physiol*. 2018;9:332. DOI:10.3389/fphys.2018.00332
 42. Peleli M, Bibli SI, Li Z, et al. Cardiovascular phenotype of mice lacking 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase. *Biochem Pharmacol*. 2020;176:113833. DOI:10.1016/j.bcp.2020.113833
 43. Szabo C. Hydrogen sulfide, an enhancer of vascular nitric oxide signaling: mechanisms and implications. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2017;312(1):C3-15. DOI:10.1152/ajpcell.00282.2016
 44. Secades JJ, Gareri P. Citicoline: pharmacological and clinical review, 2022 update. *Rev Neurol*. 2022;75(s05):S1-89 [Article in English, Spanish]. DOI:10.33588/rn.75s05.2022311
 45. Samadian H, Ehterami A, Sarrafzadeh A, et al. Sophisticated polycaprolactone/gelatin nanofibrous nerve guided conduit containing platelet-rich plasma and citicoline for peripheral nerve regeneration: In vitro and in vivo study. *Int J Biol Macromol*. 2020;150:380-8. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2020.02.102
 46. Gudi V, Schäfer N, Gingele S, et al. Regenerative effects of CDP-choline: a dose-dependent study in the toxic cuprizone model of de- and remyelination. *Pharmaceutics (Basel)*. 2021;14(11):1156. DOI:10.3390/ph14111156
 47. Rossi GCM, Rolle T, De Silvestri A, et al. Multicenter, prospective, randomized, single blind, cross-over study on the effect of a fixed combination of citicoline 500 mg plus homotaurine 50 mg on pattern electroretinogram (PERG) in patients with open angle glaucoma on well controlled intraocular pressure. *Front Med (Lausanne)*. 2022;9:882335. DOI:10.3389/fmed.2022.882335

Статья поступила в редакцию / The article received: 01.11.2023

Статья принята к печати / The article approved for publication: 24.11.2023



OMNIDOCTOR.RU