

ЯНТАРНАЯ КИСЛОТА ПРЕДОТВРАЩАЕТ РАЗВИТИЕ НАРУШЕНИЙ В СИСТЕМЕ ФЕРМЕНТОВ ПЕРВОЙ ЛИНИИ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ, СВЯЗАННЫХ С ДЕЙСТВИЕМ НИКОТИНА НА СЕРДЦЕ И ПЕЧЕНЬ ЦЫПЛЯТ

Жукова О.Ю.¹, Старун А.С.², Ефременко Е.С.²

¹ *ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 194100, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Литовская, 2*

² *ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 644099, Россия, г. Омск, ул. Ленина, 12*

Резюме

Введение. Широкое распространение электронных систем доставки никотина, наличие дома жидкостей для вейпов представляет угрозу для маленьких детей, которые могут проглотить опасное вещество. Последствия воздействия никотина на организм ребенка не ясны, необходима разработка методов наиболее раннего устранения возможных нарушений. Литературные данные позволяют делать лишь косвенные выводы о возможности использования янтарной кислоты для коррекции нарушений, вызванных проглатыванием никотинсодержащей продукции.

Цель. Оценить возможность использования янтарной кислоты для коррекции никотин-индуцированных нарушений на уровне первой линии антиоксидантной защиты у развивающихся организмов в эксперименте на цыплятах.

Материалы и методы. Никотинсодержащая жидкость для вейпа вводилась 5-суточным цыплятам перорально для моделирования ситуации проглатывания ее ребенком. Опытной группе после раствора никотина через 15 минут перорально вводили по 2 капли 1% раствора янтарной кислоты в дозе 20 мг/кг. В соответствии с представлениями о периодичности фаз эндотоксикоза, для выявления максимальных нарушений в антиоксидантной системе проводилось

моделирование острой интоксикации в течение трех дней. После декапитации готовили гомогенаты печени и сердца. Исследовали активность супероксиддисмутазы, каталазы и концентрацию белка. Полученные данные были подвергнуты статистической обработке с использованием непараметрического анализа в программе SPSS 26.

Результаты. В печени цыплят, получавших жидкость для вейпа с никотином, активность супероксиддисмутазы на 70% ниже, чем у цыплят контрольной группы ($p < 0,001$), активность каталазы, наоборот, повышена на 67,5% ($p < 0,001$). В гомогенатах сердца изменения общей активности ферментов первой линии антиоксидантной защиты имеют те же закономерности, что и в печени.

При введении цыплятам янтарной кислоты угнетения активности супероксиддисмутазы не наблюдается, активность каталазы незначительно выше контрольной группы (на 16,2%, $p = 0,001$), но ниже, чем у цыплят, которым вводили только жидкость для вейпов (на 69,4%, $p < 0,001$).

Также отмечена тенденция к увеличению содержания белка в гомогенатах печени и сердца цыплят, получавших жидкость для вейпов без последующей коррекции янтарной кислотой.

Заключение. Пероральное введение раствора янтарной кислоты цыплятам предупреждает никотин-индуцированное накопление белка, снижение активности супероксиддисмутазы и активацию каталазы в тканях печени и сердца. Полученные данные продемонстрировали потенциальную возможность использования янтарной кислоты для коррекции нарушений, вызванных употреблением жидкости для вейпов, у развивающихся организмов на примере цыплят. Необходимы дополнительные экспериментальные и клинические исследования, позволяющие выяснить более точные механизмы и оценить эффективность и безопасность приёма янтарной кислоты на фоне никотиновой интоксикации.

Ключевые слова: супероксиддисмутаза, каталаза, никотин, вейпы, снюс, дети, янтарная кислота, антиоксидантная система, печень, сердце

Для корреспонденции: Жукова Ольга Юрьевна, booto@live.ru, +79650278138

**SUCCINIC ACID PREVENTS NICOTINE-RELATED DISORDERS OF
FIRST-LINE ANTIOXIDANT ENZYMES
ON THE HEART AND LIVER OF CHICKENS**

Zhukova O.Iu.², Starun A.S.¹, Efremenko E.S.¹

¹ *Omsk State Medical University Lenina str., 12, Omsk , 644099, Russia*

² *St. Petersburg State Pediatric Medical University Litovskaya str., 2, St. Petersburg,
194100, Russia*

Abstract

Introduction. Widespread adoption of electronic nicotine delivery systems, the availability of vape liquids at home poses a threat to young children who may ingest the dangerous substance. The consequences of the nicotine exposure on the child's body are not clear, it is necessary to develop methods for the earliest possible elimination of possible disorders. Literature data allow us to draw only indirect conclusions about the possibility of application succinic acid to correct disorders caused by ingestion of nicotine-containing products.

Objective. The aim of this research is to evaluate the feasibility of using succinic acid for correcting nicotine-induced disorders at the first-line level of antioxidant system in developing organisms by an experiment with chickens.

Materials and Methods. Nicotine-containing vape liquid was administered orally to 5-day-old chickens for simulate the situation of being swallowed by a child. The test group was orally treated with two drops of 1% succinic acid solution prepared from «Marbiopharm» tablets at a dose of 2 mg/kg, 15 minutes after nicotine solution. In accordance with the idea of the endotoxicosis phases periodicity, acute intoxication was simulated for three days to registration maximum disorders in the antioxidant system. Liver and heart homogenates were prepared after decapitation. Superoxide dismutase activity, catalase and protein concentration were investigated. The data obtained were subjected to statistical processing using non-parametric analysis in the SPSS 26.

Results. Superoxide dismutase activity is 70% lower than that of chickens in the control group ($p \leq 0.001$), catalase activity, on the contrary, is increased by 67.5% (p

≤ 0.001) in the liver of chickens receiving vape liquid with nicotine. In cardiac homogenates, changes in the total activity of first-line antioxidant defense enzymes have the same patterns as in the liver.

When succinic acid was administered to chickens, inhibition of superoxide dismutase activity was not observed, the catalase activity was slightly higher than the control group (by 16.2%, $p = 0.001$), but lower than in chickens injected only the vape liquid (by 69.4%, $p \leq 0.001$).

There was also a tendency to a protein concentration increase in liver and heart tissues of chickens treated with vape fluid without subsequent succinic acid administration.

Conclusion. Oral administration of succinic acid solution to chickens prevents nicotine-induced protein accumulation, a drop in superoxide dismutase activity, and excessive catalase activation in liver and heart tissues. Our data demonstrated the potential of succinic acid application to correct disorders in developing organisms caused by swallowing vape fluid by the example of chickens. Additional experimental and clinical studies are needed to clarify more accurate mechanisms and assess the benefits and safety of taking succinic acid at the nicotine intoxication.

Keywords: superoxide dismutase, catalase, nicotine, vapes, snus, children, succinic acid, antioxidant system, liver, heart

Введение

Со времени появления в 2003 году электронных систем доставки никотина и электронных средств нагревания табака произошло их быстрое распространение по всему миру, в том числе среди детей и подростков, которые не знакомы с табаком в классическом варианте [1]. По статистическим отчетам разных стран число традиционных курильщиков сократилось за последние 15 лет, а спрос на электронные сигареты (вейпы) имеет противоположную тенденцию [2].

В России в возрастной группе 15-19 лет распространенность электронных сигарет превысила потребление курительного табака к 2022 году. Устойчивый

рост доли курильщиков электронных сигарет имел место в 75 субъектах РФ, в большей степени в городах федерального значения (Москва, Санкт-Петербург, Севастополь), на Дальнем Востоке (Хабаровский край, Магаданская и Сахалинская область) и некоторых территориях на юге европейской части страны (Астраханская область, Ставропольский край) [3]. По данным онлайн опросов доля потребителей электронных средств доставки никотина в 2023 году среди лиц до 18 лет увеличилась в 4 раза, по сравнению с 2019 годом, и в два раза превысила количество традиционных курильщиков в этой возрастной группе [2]. Такая ситуация во многом обусловлена ложными представлениями о безопасности вейпов, так как электронные сигареты изначально позиционировались как метод борьбы с табакозависимостью и безопасная альтернатива традиционному курению [4].

Жидкости для вейпов обычно содержат пропиленгликоль, глицерин, никотин, дистиллированную воду и ароматизаторы. При курении электронной сигареты в организм поступают меньшие количества токсичных соединений, содержащихся в табачном дыме [5], но все равно они присутствуют [6,7]. При изучении количественного и качественного состава жидкостей для вейпов, установлено, что часто заявленный состав не соответствует действительному [6], в том числе по концентрации никотина, которая может быть в разы выше. Два независимых исследования, проведенные в США [8] и Европе [9], продемонстрировали, что количество никотина, поступающего в организм при вдыхании аэрозолей, различается у разных производителей и неравномерно в процессе выкуривания электронной сигареты. Это может создавать риск передозировки, в особенности при недобросовестной маркировке состава жидкости. Более того, никотин обнаруживался и в безникотиновых жидкостях [7]. В среднем от 7 до 15 затяжек эквивалентно 1 выкуренной табачной сигарете [10].

При курении вейпов никотин быстро всасывается через легкие в виде аэрозоля, чему способствует раздражающее действие на слизистую дыхательных путей ароматических добавок. Это приводит к более быстрому и

интенсивному воздействию на организм, по сравнению с традиционным курением.

Никотин – основное вещество жидкостей электронных сигарет, способное вызывать зависимость. Дизайн, различные вкусовые и ароматические добавки облегчают переход к использованию картриджей с высоким содержанием никотина, что повышает риск токсических эффектов, особенно при частом, продолжительном использовании и случайном проглатывании жидкости [11].

Появление электронных сигарет в качестве альтернативы курению табачных изделий вызвало множество проблем, касающихся их безопасного использования среди взрослых пользователей, есть даже сообщения о смерти от передозировки [12]. Наличие дома жидкостей для вейпов, также как и сигарет, брошенных окурков, представляет угрозу для маленьких детей, животных и птиц, которые могут случайно проглотить опасное вещество. Жидкости для вейпов легко доступны и продаются в небезопасных для детей контейнерах, в том числе имеющих привлекательный внешний вид и приятный фруктовый или цветочный запах, что увеличивает риск проглатывания или вдыхания содержимого [7]. Из-за случайного приема жидкости для электронных сигарет у маленьких детей может развиваться опасная для жизни никотиновая интоксикация [13].

В двух эпидемиологических исследованиях за 2014 [14] и 2019 [15] годы, анализировались инциденты, связанные с электронными сигаретами, зарегистрированные Национальной системой данных о ядах США. Результаты показали, что большинство сообщений об отравлениях жидкостью для вейпов связано со случайным приемом ее внутрь детьми в возрасте до пяти лет и, как правило, не сопровождалось развитием тяжелых симптомов. Аналогичные выводы были сделаны по данным анализа телефонных запросов в Национальную службу информации о ядах Великобритании (NPIS) с апреля 2008 года по март 2016 года. NPIS получила 278 запросов относительно отравлений жидкостью для вейпов детьми в возрасте до 16 лет за данный период, из них 165 мальчиков, 112 девочек и 1 неизвестного пола. Большинство

пострадавших младше 4 лет (79,8%). Наиболее частыми симптомами были рвота (9,5%), тахикардия (2%), нарушение чувствительности (1%), возбуждение (1%) и повышение активности креатинкиназы в крови (1%). Обращает на себя внимание скачок количества запросов в год: единичные – до 2012 года и более сотни – к 2016 году [16].

В другом исследовании, проведенном в 2019 году на основе анализа 31 случая употребления жидкости для вейпов из 26 сообщений 11 разных стран, отмечен бимодальный характер распределения: дети младше 10 лет употребляли жидкость случайно, а после 10 лет отравления обусловлены в основном попытками самоубийства. Одиннадцать случаев (35,5%) закончились смертью пациентов [17].

В обзоре, сделанном годом раньше, сообщается, что в период с января 2012 года по апрель 2017 года было зарегистрировано более 8200 звонков в токсикологические центры США по поводу случаев, связанных с электронными сигаретами и детьми младше 6 лет: в среднем 129 звонков каждый месяц или более 4 в день. Доля детей младше 3 лет составила 84%, и проглатывание было наиболее распространенным способом отравления жидкостью, содержащей никотин (93%). У малышей наиболее частыми симптомами были тошнота и рвота. В возрасте до 3 лет нередко развивались тяжелые осложнения в виде острых нарушений деятельности сердечно-сосудистой и дыхательной систем, а также кома. Стратегия лечения при никотиновой интоксикации в основном была направлена на поддержание жизненно важных функций и детоксикацию [18]. Таким образом, литературные данные о воздействии жидкости для вейпов на детей при случайном проглатывании свидетельствуют о более серьезных последствиях инцидентов в раннем возрасте, когда даже небольшие дозы никотина способны вызвать тяжелую интоксикацию.

Кроме рисков развития интоксикации, связанной с жидкостью для электронных сигарет, в настоящее время существует неочевидная опасность отравления никотинсодержащей продукцией, не предназначенной для курения. Несмотря на государственное регулирование оборота табачных изделий и

никотинсодержащей продукции на территории Российской Федерации, запрет на оптовую и розничную торговлю насваем, табаком сосательным (снюсом), пищевой никотинсодержащей продукцией, а также никотинсодержащей продукцией, предназначенной для жевания, сосания, нюхания (Федеральный закон от 23.02.2013 N 15-ФЗ «Об охране здоровья граждан от воздействия окружающего табачного дыма, последствий потребления табака или потребления никотинсодержащей продукции», ред. от 28.12.2024), запрет на производство насвая и табака сосательного (снюса) (Федеральный закон от 13.06.2023 г. № 203-ФЗ «О государственном регулировании производства и оборота табачных изделий, табачной продукции, никотинсодержащей продукции и сырья для их производства»), данная продукция реализуется недобросовестными предпринимателями и также может оказаться во рту у ребенка.

Доказано, что курение во время беременности влияет на развитие плода и младенцев, вызывая нарушение функций легких и сердечно-сосудистой системы, дефекты органа слуха, может способствовать когнитивным и поведенческим расстройствам в более позднем возрасте [19]. Вместе с тем, модели на животных, в которых вводили только никотин, не демонстрируют какого-либо последовательного влияния на рост плода, по сравнению с классическим курением [20].

Известно, что никотин повышает образование свободных радикалов и истощает антиоксидантную систему, провоцируя или усугубляя окислительный стресс, вызывая дисфункцию митохондрий и нарушая клеточное дыхание [21, 22]. Окислительное повреждение запускает воспалительный каскад и способствует развитию стеатоза и более тяжелых заболеваний печени, включая фиброз и цирроз [23]. Никотин индуцирует воспаление и окислительный стресс, ускоряя старение гладкомышечных клеток сосудов и процессы атерогенеза [24].

Остаются неясными последствия для организма ребенка после проглатывания никотинсодержащей продукции, так как никотин-

индуцированные метаболические нарушения, дисфункция митохондрий, окислительный стресс даже при слабо выраженных клинических проявлениях в краткосрочном периоде могут запускать каскады долгосрочных патогенетических механизмов, которые сформируют в будущем основу хронических состояний и приведут к нарушению развития организма в целом.

Риски для здоровья, связанные с употреблением табака и никотинсодержащей продукции у взрослых, хорошо описаны [25, 26], тогда как последствия воздействия никотина на организм в процессе развития требуют более детального изучения и разработки методов наиболее раннего устранения возможных нарушений.

С этих позиций представляется интересным тестирование антиоксидантов, потенциально способных блокировать патогенетические механизмы в самом их начале. В нашем исследовании мы обратили внимание на янтарную кислоту, широко используемую в клинической практике неотложных состояний в качестве детоксиканта, антигипоксанта и антиоксиданта [27, 28]. Прямые клинические исследования, посвящённые влиянию янтарной кислоты на организм курильщиков или пользователей электронных сигарет ("вейперов"), а также экспериментальные исследования, направленные на изучение эффектов янтарной кислоты при никотин-индуцированных нарушениях, в открытом доступе не представлены. Возможно, низкий интерес исследователей к янтарной кислоте в данном контексте связан с ее естественным присутствием в листьях табака [29] и большей значимости токсических компонентов табачной продукции. В доступных источниках представлены работы, изучающие общие эффекты янтарной кислоты на здоровье и физиологические процессы в целом, результаты которых позволяют делать лишь косвенные выводы о возможном использовании этого вещества для коррекции нарушений, вызванных случайным или преднамеренным проглатыванием никотинсодержащей продукции [27].

Цель исследования

Оценить возможность использования янтарной кислоты для коррекции никотин-индуцированных нарушений на уровне первой линии

антиоксидантной защиты у развивающихся организмов в эксперименте на цыплятах.

Материалы и методы исследования

Эксперимент проведен на кафедре биохимии ОмГМУ на цыплятах-петушках породы Белый леггорн (Иртышская птицефабрика). Цыплята содержались согласно методическим рекомендациям по уходу за цыплятами, получали стандартный комбикорм полнорационный для птицы (1-14 дней) ПК 5-1 (ОП «Комбикормовый завод Пушкинский»). Эксперимент выполнялся с соблюдением правил асептики и антисептики. Содержание птиц и процедуры при выполнении экспериментов соответствовали требованиям инструкций и рекомендациям российского регламента (Приказ МЗ СССР 755 от 12.08.1977) и «The Guide for Care and Use of Laboratory Animals» (National Academy Press, Washington, D.C., 1996).

Цыплята были разделены на три группы. Первой группе (n=10) вводили никотин (группа сравнения), второй (n=10) – после раствора никотина через 15 минут перорально вводили по 2 капли 1% раствора янтарной кислоты в дозе 20 мг/кг (опытная группа), третьей (n=10) – физиологический раствор (контрольная группа). Перед введением раствора каждого цыпленка взвешивали. Никотинсодержащую жидкость вводили, начиная с 5 дня жизни цыпленка, когда масса тела составляла 45-50г, один раз в сутки, в течение 4-х дней, из расчета 10 мг никотина на кг веса. Использовали 1% концентрат жидкости для вейпа XIANCHANS с концентрацией никотина, согласно этикетке, 100 мг/мл (Китай).

Через сутки после последнего введения цыплят декапитировали. После декапитации вскрывали брюшную полость и грудную клетку цыплят, печень и сердце освобождали от крови путем перфузии *in situ* охлажденным до 0° С 0,14 М раствором NaCl и извлекали. В стеклянном гомогенизаторе Поттера с тефлоновым пестиком готовили 10% гомогенат печени на основе среды выделения, содержащей 0,25 М раствор сахарозы и 2,5 мМтрис-буфера (pH 7,4) и 10% гомогенат сердца на основе 0,15М KCl (pH=7,0). Ткань

гомогенизировали в течение 30-40 секунд. Для удаления частично разрушенных клеток и ядер гомогенат центрифугировали 15 минут при 600 g ($t = 0...+2^{\circ}\text{C}$). Рыхлый осадок отбрасывали. Надосадочную жидкость использовали для анализа. Исследовали активность антиоксидантных ферментов: супероксиддисмутаза (СОД) [Т.В.Сирота, 1999], каталазы [М.А.Королук, 1988]. Концентрацию белка в гомогенатах определяли методом Лоури [30].

При анализе результатов исследования использованы методы описательной и вариационной статистики. Накопление, корректировка, систематизация исходной информации и визуализация полученных результатов осуществлялись в электронных таблицах Microsoft Office Excel 2016. Материалы исследования были подвергнуты статистической обработке с использованием непараметрического анализа в программе SPSS 26. Исключение нормальности для исследуемых распределений проводилось с использованием критерия Шапиро-Уилка. Для сравнения групп использовался U-критерий Манна-Уитни. Критический уровень значимости p_U принимался равным 0,05.

Результаты исследования

В печени цыплят, получавших жидкость для вейпа с никотином, активность СОД (табл.1, рис.1) оказалась на 70% ниже, чем у цыплят контрольной группы ($p<0,001$), тогда как активность каталазы (табл.2, рис.1), наоборот, была повышена на 67,5% ($p<0,001$), то есть наблюдалась дискоординация ферментов первой линии антиоксидантной защиты. У цыплят, получавших никотин и янтарную кислоту, активность СОД практически не отличалась от контроля ($p=0,173$) и была значительно выше группы, которой вводили только жидкость с никотином, на 41,3% ($p<0,001$). Активность каталазы у цыплят опытной группы отличалась как от контрольной группы (выше на 16,2%, $p=0,001$), так и от группы сравнения (ниже на 69,4%, $p<0,001$).

Таблица 1

Сравнительная оценка активности СОД в печени цыплят, единиц активности/ мин · г ткани

Статистический показатель	Группа сравнения (никотин)	Опытная группа (никотин + янтарная кислота)	Контрольная группа
Минимум	441,0	880,2	880,2
Нижний квартиль	574,4	885,3	890,6
Медиана	635,9	898,5	914,1
Верхний квартиль	703,8	912,2	927,1
Максимум	753,9	950,5	947,9
P_u	<0,001	0,173 ^к <0,001 ^н	

Примечание:

P_u – уровень значимости различий с указанной верхним индексом группой

(К-контрольная группа, Н - группа, получавшая никотин) по критерию U-Манна-Уитни

Таблица 2

Сравнительная оценка активности каталазы в печени цыплят, мкат/г ткани

Статистический показатель	Группа сравнения (никотин)	Опытная группа (никотин + янтарная кислота)	Контрольная группа
Минимум	191,0	159,4	155,9
Нижний квартиль	252,0	171,6	156,9
Медиана	264,3	183,4	157,8
Верхний квартиль	271,2	203,0	164,0
Максимум	279,9	254,3	167,1
P_u	<0,001	0,001 ^к <0,001 ^н	

Примечание:

P_u – уровень значимости различий с указанной верхним индексом группой

(К-контрольная группа, Н - группа, получавшая никотин) по критерию U-Манна-Уитни

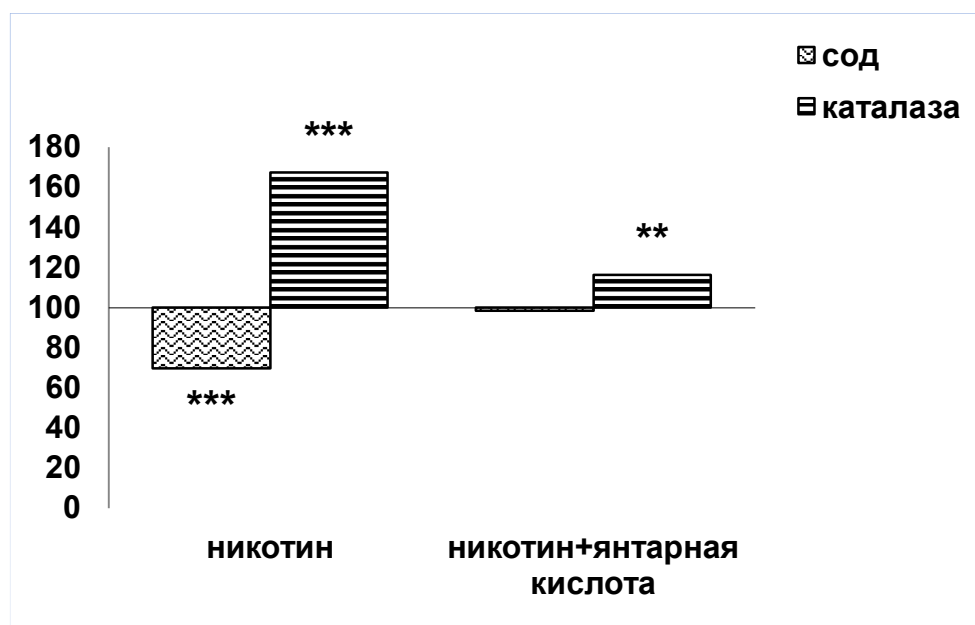


Рисунок 1. Коррекция янтарной кислотой активности ферментов первой линии антиоксидантной защиты в печени цыплят, % по отношению к контрольной группе

Примечание:

Звездочками обозначена степень достоверности различий с контрольной группой по U критерию Манна-Уитни (* $0.01 < p \leq 0.05$, ** $0.001 < p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$)

В гомогенатах сердца общая активность ферментов первой линии антиоксидантной защиты имела те же закономерности, что и в печени. Введение никотинсодержащей жидкости угнетало активность СОД (таб. 3, рис.2) на 47,8% ($p < 0,001$) и стимулировало активацию каталазы (табл. 4, рис. 2) в 3,8 раза ($p < 0,001$). При коррекции янтарной кислотой различия с контрольной группой по активности СОД терялись ($p = 0,405$), а по активности каталазы наблюдалось лишь небольшое повышение активности, по сравнению с контрольной группой, на 31,9% ($p = 0,005$), зато существенная разница с группой сравнения (ниже в 2,9 раза).

Мы также обратили внимание на изменение концентрации белка в исследуемых тканях (рис.3, 4). Хотя данные сдвиги были не столь существенны ($p = 0,049$), все же заметна тенденция к увеличению содержания белка в печени и сердце в группе, получавшей жидкость для вейпа, что может быть обусловлено активацией воспалительных процессов в этих органах. В таком случае введение янтарной кислоты оказывало противовоспалительный эффект, так как

содержание белка в органах опытной группы достоверно не отличалось от контроля ($p=0,112$).

Таблица 3

**Сравнительная оценка активности СОД в сердце цыплят, ед.акт./ мин · г
ткани**

Статистический показатель	Группа сравнения (никотин)	Опытная группа (никотин + янтарная кислота)	Контрольная группа
Минимум	184,6	880,2	675,7
Нижний квартиль	315,4	885,3	702,7
Медиана	348,7	898,5	729,7
Верхний квартиль	415,4	912,2	763,5
Максимум	482,1	950,5	864,9
P_u	$<0,001$	$0,405^k$ $<0,001^H$	

Примечание:

P_u – уровень значимости различий с указанной верхним индексом группой

(К-контрольная группа, Н - группа, получавшая никотин) по критерию U-Манна-Уитни

Таблица 4

**Сравнительная оценка активности каталазы в сердце цыплят, мкат/г
ткани**

Статистический показатель	Группа сравнения (никотин)	Опытная группа (никотин + янтарная кислота)	Контрольная группа
Минимум	40,2	13,4	5,4
Нижний квартиль	45,6	15,4	8,9
Медиана	50,8	17,8	13,5
Верхний квартиль	54,7	22,3	15,0
Максимум	61,0	30,2	15,5
P_u	$<0,001$	$0,005^k$ $<0,001^H$	

Примечание:

P_u – уровень значимости различий с указанной верхним индексом группой

(К-контрольная группа, Н - группа, получавшая никотин) по критерию U-Манна-Уитни

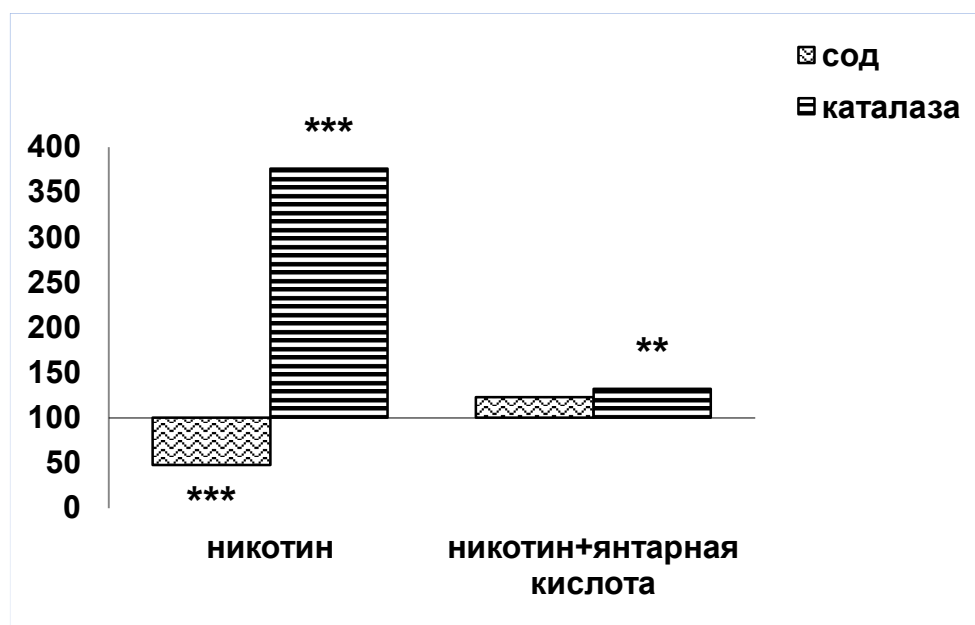


Рисунок 2. Коррекция янтарной кислотой активности ферментов первой линии антиоксидантной защиты в сердце цыплят, % по отношению к контрольной группе

Примечание:

Звездочками обозначена степень достоверности различий с контрольной группой по U критерию Манна-Уитни (* $0.01 < p \leq 0.05$, ** $0.001 < p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$)

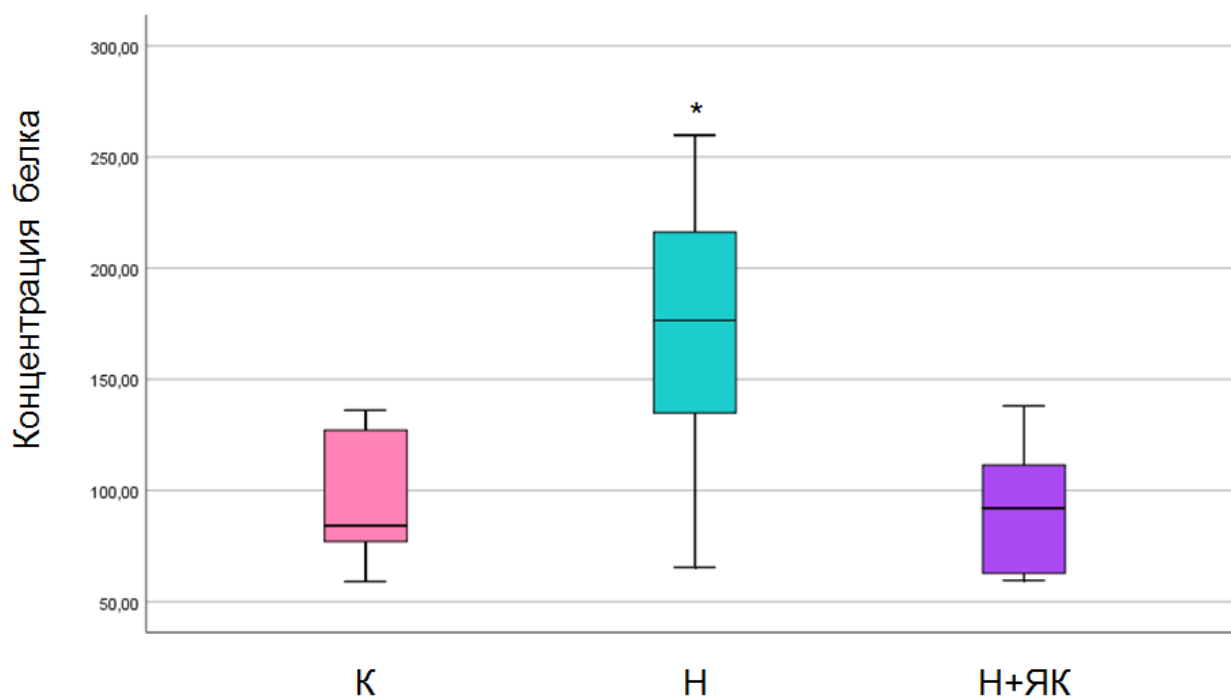


Рисунок 3. Сравнительная оценка концентрации белка в печени цыплят, мг/г ткани

Примечание:

К – контрольная группа, Н – группа, получавшая никотин, Н+ЯК – группа, получавшая янтарную кислоту после никотина

Звездочками обозначена степень достоверности различий с контрольной группой по U критерию Манна-Уитни (* $0.01 < p \leq 0.05$, ** $0.001 < p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$)

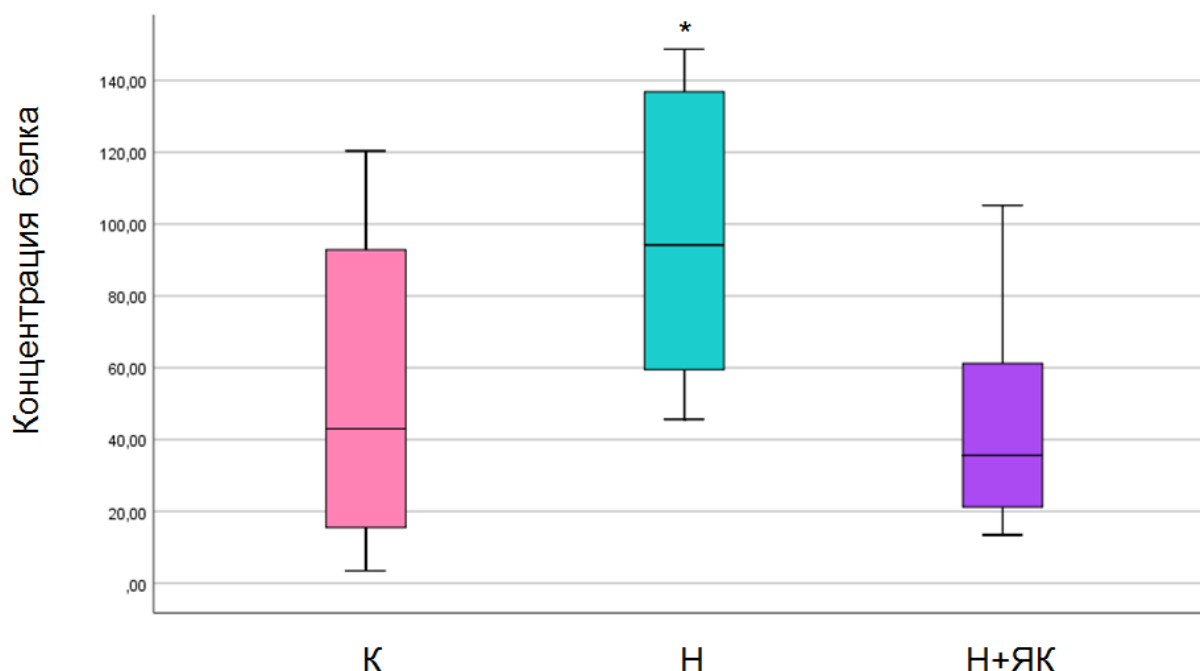


Рисунок 4. Сравнительная оценка концентрации белка в сердце цыплят, мг/г ткани

Примечание:

К – контрольная группа, Н – группа, получавшая никотин, Н+ЯК – группа, получавшая янтарную кислоту после никотина

Звездочками обозначена степень достоверности различий с контрольной группой по U критерию Манна-Уитни (* $0.01 < p \leq 0.05$, ** $0.001 < p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$)

Обсуждение результатов исследования

Согласно литературным данным, никотин представляет собой растворимый в воде и липидах алкалоид, присутствующий в крови в виде свободного основания. Период полураспада никотина в плазме составляет 40-120 минут. После перорального приема никотин всасывается слизистой оболочкой во рту и кишечнике и метаболизируется преимущественно в печени. Никотин подвергается быстрой биотрансформации в печени в один из шести первичных метаболитов, из которых основным является котинин. До 80% никотина превращается в это производное при окислении ферментами семейства цитохромов P450, главным образом CYP P450 2A6, побочными продуктами активации которого являются активные формы кислорода [17].

Мы предполагаем, что обнаруженная в нашем исследовании тенденция к увеличению концентрации белка в тканях печени и сердца цыплят, получавших

жидкость для вейпа, связана с развитием окислительного стресса и острого воспаления. В эксперименте на мышах было показано, что в печени и других органах животных при свободном доступе к раствору никотина (100 мкг/мл) в 2% сахарозе усиливается перекисное окисление липидов, повышается содержание карбонильных производных белков, экспрессия провоспалительного белка фактора некроза опухоли альфа (ФНО α), образование оксида азота и количество миелопероксидазы нейтрофилов. В результате воздействия никотина макрофаги и эндотелиоциты вырабатывают больше интерлейкина-6, колониестимулирующего фактора макрофагов. Интерлейкин-6 стимулирует в печени синтез белков острой фазы воспаления, а в эндотелиоцитах молекул адгезии, которые выполняют роль факторов миграции моноцитов и лимфоцитов в интиму, инициируются процессы воспаления в сосудистой стенке [31].

Пути обезвреживания свободных радикалов в клетке группируют в три основные линии антиоксидантной защиты. Первая линия защиты предусматривает возможность детоксикации активных форм кислорода — супероксидного радикала и перекиси водорода с участием СОД и каталазы, что позволяет предотвратить образование очень активного гидроксильного радикала при протекании реакций Фентона и Хабер-Вайса [32]. СОД катализирует реакцию дисмутации супероксидных анионов с образованием пероксида водорода, а тот, в свою очередь, разлагается каталазой до молекулы кислорода и воды. В норме данные ферменты должны работать согласовано. Супероксидный радикал при его избытке может также дисмутировать в пероксид водорода неферментативно. У аэробных организмов достаточно много механизмов спонтанного или целенаправленного образования супероксидного радикала. Среди них митохондриальная электронная транспортная цепь, НАДФН-оксидаза, ксантинооксидаза и цитохром Р450-монооксигеназы. Никотин активирует ксантинооксидазу, липооксигеназу, моноаминоксидазу НАДФН-оксидазу, цитохром-Р450-монооксигеназы, провоцирует митохондриальную дисфункцию [31].

По данным других исследователей подкожное введение никотина крысам в дозе 2,5 мг/кг в течение 22 недель приводило к снижению активности СОД и каталазы печени [33]. В проведенном исследовании обнаружена депрессия активности СОД в тканях печени и сердца у цыплят, тогда как активность каталазы, наоборот, повышалась. Снижение активности последней наступает при хронической интоксикации, описанной в литературе. В нашем эксперименте наблюдаются изменения, связанные с относительно непродолжительным воздействием (цыплята получали никотин только 3 дня), и повышение активности фермента в этом случае можно считать адаптивным, в соответствии с количеством гидроперекисей, на расщепление которых направлено действие фермента. При низких концентрациях перекись водорода действует как восстановитель на тиольные группы СОД, восстановленный фермент устойчив к кислороду. Высокие концентрации, наоборот, окисляют тиольные группы в составе активного центра СОД. Это приводит к инактивации фермента, что объясняется принципом обратной связи: образующийся в ходе реакции дисмутирования продукт – пероксид водорода – влияет на активность СОД в сторону снижения [34]. Выявленное в нашем эксперименте снижение активности СОД на фоне адаптивной активации каталазы, скорее всего, связано с избыточной продукцией пероксида водорода, однако это предположение требует проверки.

Двухэлектронное восстановление кислорода при митохондриальном дыхании с использованием сукцината в качестве дыхательного субстрата также является клеточным источником H_2O_2 , при котором до 2% от общего количества поступившего кислорода преобразуется в H_2O_2 (потребление кислорода в отсутствие АДФ) [35]. Так как янтарная кислота в процессе метаболизма стимулирует образование пероксида водорода митохондриями, то в опытной группе наряду с восстановлением активности СОД, не произошло снижения активности каталазы до уровня контрольной группы. Однако избыток пероксида, по всей видимости, был устранен введением данного метаболического корректора, следствием чего стало восстановление активности

СОД в исследуемых тканях. Механизмы, посредством которых янтарная кислота может снижать продукцию пероксида водорода, требуют дальнейшего изучения.

Сердечно-сосудистая система цыпленка реагирует на никотин также, как у человека. В экспериментальных токсикологических исследованиях уже более 100 лет используются куриные эмбрионы, которые являются прекрасной моделью для изучения токсичности веществ с ожидаемыми сердечно-сосудистыми эффектами. M. Rosenbruch с соавторами продемонстрировали сравнимость результатов, полученных при введении адреналина и никотина в куриные эмбрионы, с эффектами этих веществ у людей [36]. Янтарная кислота применяется для защиты от острой токсичности, для активации энергетического обмена, для повышения устойчивости к гипоксии и в качестве антиоксиданта как в медицине, так и при выращивании цыплят [37].

Несмотря на применимость использованной модели для достижения поставленной цели, результаты, полученные в нашей работе, позволяют сделать лишь ограниченные выводы, только указывающие направление для проведения дальнейших экспериментальных и клинических исследований.

Заключение

Проведенную работу можно назвать «пилотным» исследованием, поднимающим проблему детской токсикологии, связанную с широким распространением электронных устройств для курения, и наметившую перспективное направление для проведения специализированных исследований эффективности янтарной кислоты среди различных групп курильщиков, вейперов и, в особенности, детей. В нашем эксперименте никотинсодержащая жидкость для вейпа вводилась 5-суточным цыплятам перорально для моделирования ситуации случайного или преднамеренного ее проглатывания ребенком [38]. В соответствии с представлениями о периодичности фаз эндотоксикоза, для выявления максимальных нарушений в антиоксидантной системе проводилось моделирование острой интоксикации в течение трех дней. Как показали результаты нашего исследования, подтверждаемые литературными данными,

проглатывание никотинсодержащей жидкости для вейпа вызывает в печени и сердце цыплят накопление белка, что может быть связано с развитием воспаления [39]. Отмечено угнетение активности СОД и активация каталазы в исследуемых тканях, то есть дискоординация ферментов первой линии антиоксидантной защиты, что, возможно, связано с избыточной продукцией пероксида водорода в результате действия токсического фактора. Пероральное введение раствора янтарной кислоты цыплятам предупреждало как накопление белка, так и падение активности СОД и чрезмерную активацию каталазы. Наши данные продемонстрировали потенциальную возможность использования янтарной кислоты для коррекции никотин-индуцированных нарушений на уровне первой линии антиоксидантной защиты у развивающихся организмов на примере цыплят. Необходимы дополнительные экспериментальные и клинические исследования, позволяющие выяснить более точные механизмы и объективно оценить пользу и безопасность приёма янтарной кислоты на фоне никотиновой интоксикации.

Список литературы

1. Скворцова Е.С., Мамченко М.М. Курение электронных сигарет как медико-социальная проблема. *Профилактическая медицина*. 2021; 24(8): 89-94.
2. Салагай О.О., Антонов Н.С., Сахарова Г.М. Анализ тенденций в потреблении табачных и никотинсодержащих изделий в Российской Федерации по результатам онлайн-опросов 2019–2023 гг. *Профилактическая медицина*. 2023; 26(5): 7-16.
3. Стадник Н.М., Никитина С.Ю., Сахарова Г.М., Антонов Н.С., Салагай О. О. Распространенность потребления табачной и никотинсодержащей продукции в Российской Федерации: анализ тенденций в 2019-2022 гг. *Демографическое обозрение*. 2024; 11(1): 37-60.
4. Auer R., Schoeni A., Humair J.-P. et al. Electronic Nicotine-Delivery Systems for Smoking Cessation. *Engl J Med*. 2024; 390 (7): 601-610.
5. Goniewicz M.L., Knysak J., Gawron M., et al. Levels of selected carcinogens and toxicants in vapour from electronic cigarettes. *Tob Control*. 2014; 23: 133-139.

6. Cheng T. Chemical evaluation of electronic cigarettes. *Tob Control*. 2014; 23(2): 11–17.
7. Галицкая М.Г., Фисенко А.П., Макарова С.Г. Электронные сигареты (вейпы) – старая угроза здоровью в новом обличьи. *Российский педиатрический журнал*. 2022; 25(5): 357–361.
8. Trtchounian A., Williams M., Talbot P. Conventional and electronic cigarettes (e-cigarettes) have different smoking characteristics. *Nicotine & Tobacco Research*. 2010; 12(9): 905-912.
9. Goniewicz M.L., Kuma T., Gawron M., Knysak J., Kosmider L. Nicotine Levels in Electronic Cigarettes. *Nicotine & Tobacco Research*. 2012; 15(1): 158-166
10. Prochaska J.J., Vogel E.A., Benowitz N. Nicotine delivery and cigarette equivalents from vaping a JUULpod. *Tob Control*. 2022; 31(e1): 88-93.
11. Яблонский П.К., Суховская О.А., Смирнова М.А. Токсические компоненты аэрозоля вейпов. *Медицинский Альянс*. 2023; 11(1): 106–110.
12. Park E.J., Min Y.G. The emerging method of suicide by electronic cigarette liquid: a case report. *J Korean Med Sci*. 2018; 33: 52.
13. Seo A.D., Kim D.C., Yu H.J., Kang M.J. Accidental ingestion of E-cigarette liquid nicotine in a 15-month-old child: an infant mortality case of nicotine intoxication. *Korean J Pediatr*. 2016; 59(12): 490-493
14. Vakkalanka J.P., Hardison L.S.Jr., Holstege C.P. Epidemiological trends in electronic cigarette exposures reported to U.S. Poison Centers. *Clin Toxicol*. 2014; 52: 542–548.
15. Hughes A., Hendrickson R.G. An epidemiologic and clinical description of e-cigarette toxicity. *Clin Toxicol*. 2019; 57: 287–293.
16. Ang E., Tuthill D., Thompson J. E-cigarette liquid ingestion: a fast growing accidental issue in children Archives of Disease in Childhood. *Arch Dis Child*. 2018; 103(11): 1091.
17. Maessen G.C., Wijnhoven A.M., Neijzen R.L. et al. Nicotine intoxication by e-cigarette liquids: a study of case reports and pathophysiology. *Clin Toxicol (Phila)*. 2020; 58(1): 1-8.

18. Nordstrom S.N. Preventing Liquid Nicotine Toxic Effects on Children. *J Emerg Nurs.* 2018; 44(5): 523-525.
19. Greene R.M., Pisano M.M. Developmental toxicity of e-cigarette aerosols. *Birth Defects Res.* 2019; 111(17): 1294-1301.
20. Hussein J., Farkas S., MacKinnon Y. et al. Nicotine doseconcentration relationship and pregnancy outcomes in rat: Biologic plausibility and implications for future research. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2007; 218(1): 1-10
21. Devi A.R., Sengupta M., Barman D.M., Choudhury Y. Oral Nicotine Induces Oxidative Stress and Inflammation but Does Not Subvert Tumor Suppressor and DNA Repair Responses in Mice. *Indian J Clin Biochem.* 2021; 36(3): 296-303.
22. Meng T.T., Wang W., Meng F.L. et al. Nicotine Causes Mitochondrial Dynamics Imbalance and Apoptosis Through ROS Mediated Mitophagy Impairment in Cardiomyocytes. *Front Physiol.* 2021; 12: 650055.
23. Mignini I., Galasso L., Piccirilli G. et al. Interplay of Oxidative Stress, Gut Microbiota, and Nicotine in Metabolic-Associated Steatotic Liver Disease (MASLD). *Antioxidants (Basel).* 2024; 13(12): 1532.
24. Centner A.M., Bhide P.G., Salazar G. Nicotine in Senescence and Atherosclerosis. *Cells.* 2020; 9 (4): 1035.
25. Adkison S.E., O'Connor R.J., Bansal-Travers M., et al. Electronic nicotine delivery systems: international tobacco control four-country survey. *Am J Prev Med.* 2013; 44: 207–215.
26. Nagy S., Abdool A., Rocco O. et al. The Impacts of Vaping on the Cardiovascular System: A Systematic Review of Case Reports. *Cureus.* 2025; 17(1): 77780.
27. Головки А.И., Батоцыренова Е.Г., Комов Ю.В., Хальчицкий С.Е., Кашуро В.А. Обзор лекарственных препаратов для коррекции нарушений ЦНС, развившихся в результате действия нейротоксикантов. *Medline.ru. Российский биомедицинский журнал.* 2022;23(1):385–419.
28. Zarubina I.V., Lukk M.V., Shabanov P.D. Antihypoxic and Antioxidant Effects of Exogenous Succinic Acid and Aminothiol Succinate-Containing

- Antihypoxants. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2012; 153(3): 336-339.
29. Sádecká J., Polonský J. Determination of organic acids in tobacco by capillary isotachopheresis. *Journal of Chromatography A*. 2003; 988 (1): 161-165
30. Досон Р., Эллиот Д., Эллиот У., Джонс К. *Справочник биохимика*. М.: Мир; 1991.
31. Монгирдиене А., Виежелиене Д., Куршветене Л. Воздействие никотина и смол, находящихся в табачном дыме, на процессы атерогенеза. *Кардиология*. 2012; 52(9): 87-93.
32. Батоцыренова Е.Г., Кашуро В.А., Минаева Л.В. и др. Сигнальная функция активных форм кислорода при интоксикации тиопенталом натрия. *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*. 2014; 16 (5-4): 1376-1379.
33. Muthukumaran S., Sudheer A.R., Menon V.P., Nalini N. Protective effect of quercetin on nicotine-induced prooxidant and antioxidant imbalance and DNA damage in Wistar rats. *Toxicology*. 2008; 243(1-2): 207-215.
34. Волыхина В.Е., Шафрановская Е.В. Супероксиддисмутаза: структура и свойства. *Вестник ВГМУ*. 2009; 8(4): 6-12.
35. Boveris A., Oshino N., Chance B. The cellular production of hydrogen peroxide. *Biochem J*. 1972; 128 (3): 617-630.
36. Rosenbruch M., Kniepen J., Weishaupt C. The early chick embryo as a model to evaluate cardiovascular effects of adrenaline and nicotine. *Toxicology in Vitro*. 1993; 7(4): 541-545.
37. Кротова О.Е., Урбан Г.А., Маштыков С.С. и др. Применение янтарной кислоты в кормлении цыплят-бройлеров. В кн.: *Материалы Международной научной конференции «Совершенствование региональных породных ресурсов мясного скота и повышение их генетического потенциала в целях наращивания производства высококачественной отечественной говядины»*. Элиста: Калмыцкий государственный университет имени Б.Б. Городовикова; 2020: 155-160.

38. Бонитенко Е.Ю., Кашуро В.А., Башарин В.А. Вопросы моделирования в экспериментальной токсикологии и медицине. Биомодели нулевого порядка. *Медицина труда и промышленная экология*. 2022. 62(11): 718-732.
39. Богданов К.М., Шальнов М.И., Штуккенберг Ю.М. Периодичность в обмене водорода между органическими структурами и водой организма. *Биофизика*. 1959; IV(5): 582-587.

References

1. Skvortsova E.S., Mamchenko M.M. Smoking electronic cigarettes as a medical and social problem. *Profilakticheskaya medicina*. 2021; 24(8): 89-94 (in Russian).
2. Salagay O.O., Antonov N.S., Sakharova G.M. Analysis of trends in the consumption of tobacco and nicotine-containing products in the Russian Federation according to the results of online surveys 2019–2023. *Profilakticheskaya Meditsina*. 2023; 26(5): 7–16 (in Russian).
3. Stadnik N., Nikitina S., Sakharova G., Antonov N., & Salagay O. Prevalence of tobacco consumption in the Russian Federation: analysis of trends in 2019 - 2022. *Demographic Review*. 2024; 11(1): 37-60 (in Russian).
4. Auer R., Schoeni A., Humair J.-P. et al. Electronic Nicotine-Delivery Systems for Smoking Cessation. *Engl J Med*. 2024; 390 (7): 601-610.
5. Goniewicz M.L., Knysak J., Gawron M., et al. Levels of selected carcinogens and toxicants in vapour from electronic cigarettes. *Tob Control*. 2014; 23: 133-139.
6. Cheng T. Chemical evaluation of electronic cigarettes. *Tob Control*. 2014; 23(2): 11–17.
7. Galitskaya M.G., Fisenko A.P., Makarova S.G. Electronic cigarettes (vapes) are an old threat to health in a new guise. *Rossiyskiy Pediatricheskiy Zhurnal. Russian Pediatric Journal*. 2022; 25 (5): 357–361 (in Russian).
8. Trtchounian A., Williams M., Talbot P. Conventional and electronic cigarettes (e-cigarettes) have different smoking characteristics. *Nicotine & Tobacco Research*.

2010; 12(9): 905-912.

9. Goniewicz M.L., Kuma T., Gawron M., Knysak J., Kosmider L. Nicotine Levels in Electronic Cigarettes. *Nicotine & Tobacco Research*. 2012; 15(1): 158-166.
10. Prochaska J.J., Vogel E.A., Benowitz N. Nicotine delivery and cigarette equivalents from vaping a JUULpod. *Tob Control*. 2022; 31(e1): 88-93.
11. Yablonskiy P.K., Sukhovskaya O.A., Smirnova M. A. Toxic components of vape aerosol. *Medical Alliance*. 2023; 11(1): 106–110 (in Russian).
12. Park E.J., Min Y.G. The emerging method of suicide by electronic cigarette liquid: a case report. *J Korean Med Sci*. 2018; 33: 52.
13. Seo A.D., Kim D.C., Yu H.J., Kang M.J. Accidental ingestion of E-cigarette liquid nicotine in a 15-month-old child: an infant mortality case of nicotine intoxication. *Korean J Pediatr*. 2016; 59(12): 490-493.
14. Vakkalanka J.P., Hardison L.S.Jr., Holstege C.P. Epidemiological trends in electronic cigarette exposures reported to U.S. Poison Centers. *Clin Toxicol*. 2014; 52: 542–548.
15. Hughes A., Hendrickson R.G. An epidemiologic and clinical description of e-cigarette toxicity. *Clin Toxicol*. 2019; 57: 287–293.
16. Ang E., Tuthill D., Thompson J. E-cigarette liquid ingestion: a fast growing accidental issue in children Archives of Disease in Childhood. *Arch Dis Child*. 2018; 103(11): 1091.
17. Maessen G.C., Wijnhoven A.M., Neijzen R.L. et al. Nicotine intoxication by e-cigarette liquids: a study of case reports and pathophysiology. *Clin Toxicol (Phila)*. 2020; 58(1): 1-8.
18. Nordstrom S.N. Preventing Liquid Nicotine Toxic Effects on Children. *J Emerg Nurs*. 2018; 44(5): 523-525.
19. Greene R.M., Pisano M.M. Developmental toxicity of e-cigarette aerosols. *Birth Defects Res*. 2019; 111(17): 1294-1301.
20. Hussein J., Farkas S., MacKinnon Y. et al. Nicotine doseconcentration relationship and pregnancy outcomes in rat: Biologic plausibility and implications for future research. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2007; 218(1): 1-10.

21. Devi A.R., Sengupta M., Barman D.M., Choudhury Y. Oral Nicotine Induces Oxidative Stress and Inflammation but Does Not Subvert Tumor Suppressor and DNA Repair Responses in Mice. *Indian J Clin Biochem.* 2021; 36(3): 296-303.
22. Meng T.T., Wang W., Meng F.L. et al. Nicotine Causes Mitochondrial Dynamics Imbalance and Apoptosis Through ROS Mediated Mitophagy Impairment in Cardiomyocytes. *Front Physiol.* 2021; 12: 650055.
23. Mignini I., Galasso L., Piccirilli G. et al. Interplay of Oxidative Stress, Gut Microbiota, and Nicotine in Metabolic-Associated Steatotic Liver Disease (MASLD). *Antioxidants (Basel).* 2024; 13(12): 1532.
24. Centner A.M., Bhide P.G., Salazar G. Nicotine in Senescence and Atherosclerosis. *Cells.* 2020; 9 (4): 1035.
25. Adkison S.E., O'Connor R.J., Bansal-Travers M., et al. Electronic nicotine delivery systems: international tobacco control four-country survey. *Am J Prev Med.* 2013; 44: 207–215.
26. Nagy S., Abdool A., Rocco O. et al. The Impacts of Vaping on the Cardiovascular System: A Systematic Review of Case Reports. *Cureus.* 2025; 17(1): 77780.
27. Golovko A.I., Batotsyrenova E.G., Komov Yu.V., Khalchitsky S.E., Kashuro V.A. Review of drugs for the correction of CNS disorders developed as a result of the action of neurotoxicants. *Medline.ru. Russian Biomedical Journal.* 2022; 23(1):385–419. (In Russian).
28. Zarubina I.V., Lukk M.V., Shabanov P.D. Antihypoxic and Antioxidant Effects of Exogenous Succinic Acid and Aminoethiol Succinate-Containing Antihypoxants. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 2012; 153(3): 336-339.
29. Sádecká J., Polonský J. Determination of organic acids in tobacco by capillary isotachopheresis. *Journal of Chromatography A.* 2003; 988 (1): 161-165.
30. Doson R., Elliot D., Elliot U., Jons K. *Biochemist's Handbook.* M.: Mir; 1991 (in Russian).
31. Mongirdiene A., Viezheliene D., Kurshvetene L. Effect of nicotine and tar present in cigarette smoke on the process of atherogenesis. *Kardiologija.* 2012; 52(9): 87-93 (in Russian).

32. Batotsyrenova E.G., Kashuro V.A., Minaeva L.V., et al. The signal function of reactive oxygen species when intoxicated with sodium thiopental. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra Rossiyskoy akademii nauk*. 2014; 16(5-4): 1376-1379. (in Russian).
33. Muthukumaran S., Sudheer A.R., Menon V.P., Nalini N. Protective effect of quercetin on nicotine-induced prooxidant and antioxidant imbalance and DNA damage in Wistar rats. *Toxicology*. 2008; 243(1-2): 207-215.
34. Volykhina V.E., Shafranovskaia E.V. Superoxide dismutases: structure and properties. *Vestnik Vitebskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta*. 2009; 8(4): 6-12 (in Russian).
35. Boveris A., Oshino N., Chance B. The cellular production of hydrogen peroxide. *Biochem J*. 1972; 128 (3): 617-630.
36. Rosenbruch M., Kniepen J., Weishaupt C. The early chick embryo as a model to evaluate cardiovascular effects of adrenaline and nicotine. *Toxicology in Vitro*. 1993; 7(4): 541-545.
37. Krotova O.E., Urban G.A., Mashtykov S.S. et al. Application of succinic acid in feeding broiler chickens. In: *Materials of the International Scientific Conference "Improving Regional Breed Resources of Beef Cattle and Increasing Their Genetic Potential in Order to Building the Production of High-Quality Domestic Beef"*. Elista: Kalmyk State University named after B.B. Gorodovikov; 2020: 155-160 (in Russian).
38. Bonitenko E.Yu., Kashuro V.A., Basharin V.A. Modeling issues in experimental toxicology and medicine. Zero-order biomodels. *Med. truda i prom. ekol*. 2022; 62(11): 718–732.
39. Bogdanov K.M., Shalnov M.I., Shtukkenberg Iu.M. Periodicity in hydrogen exchange between organic structures and body water. *Biofizika*. 1959; IV(5): 582-587 (in Russian).