

Влияние электролизованной щелочной воды с высоким рН на вязкость крови у здоровых взрослых людей.

- Joseph Weidman
- Ralph E. Holsworth Jr.
- Bradley Brossman
- Daniel J. Cho
- John St.Cyr (автор, отвечающий за переписку по электронной почте)
- Gregory Fridman

Journal of the International Society of Sports Nutrition (Журнал Международного общества по спортивному питанию) 2016 13: 45

<https://doi.org/10.1186/s12970-016-0153-8>

© The Author(s). 2016

- **Поступило в редакцию:** 25 июня 2016 г.
- **Принято к публикации:** 18 ноября 2016 г.
- **Опубликовано:** 28 ноября 2016 г.

Аннотация

Актуальность

Преыдушие исследования показали, что спортивные напитки, употребляемые после тренировок, могут влиять на показатели биомаркеров гидратации. Не существует специфического маркера гидратации, который мог бы считаться идеальным показателем регидратации после интенсивных физических упражнений. В настоящее время в качестве параметра, отражающего уровень гидратации организма сразу после тренировки, используют показатель изменения массы тела. Для правильной оценки и проведения регидратации после интенсивных тренировок необходимо также определять дополнительные параметры. В данном рандомизированном двойном слепом исследовании с параллельными группами оценивалось влияние воды с высоким рН на значения четырех биомаркеров после дегидратации, вызванной физическими упражнениями.

Методы

Сто здоровых взрослых участников (50 мужчин и 50 женщин, в возрасте 31 ± 6 лет) были задействованы в испытаниях, проходивших в одном клиническом исследовательском центре в Камдене, Нью-Джерси, и закончили участие в исследовании без каких-либо нежелательных явлений. Тренировки проводились в теплом помещении ($30\text{ }^{\circ}\text{C}$, относительная влажность - 70%) и длились до тех пор, пока вес участников не снижался на $2,0 \pm 0,2\%$ из-за выделения влаги с потом, что отражало уровень физической нагрузки, приводящей к легкой дегидратации. Участники были случайным образом распределены по группам; регидратация проводилась либо с использованием электролизованной щелочной воды, либо при употреблении стандартной воды; напитки в обеих группах вводились в равном объеме (2% массы тела); оценка производилась в 2-часовой период восстановления после тренировки для выявления каких-либо изменений в определяемых параметрах. Оценивались исходные значения и значения, полученные в течение периода восстановления, следующих биомаркеров: вязкость крови (при высокой и низкой скорости сдвига), осмоляльность плазмы, биоимпеданс и масса тела; также проводился мониторинг показателей жизненно важных функций. Кроме того, для дополнительной валидации был выполнен анализ с использованием смешанной модели.

Результаты

После дегидратации, обусловленной физическими упражнениями, потребление электролизованной воды с высоким уровнем рН уменьшало вязкость при высокой скорости сдвига в среднем на 6,30% и на 3,36% - при употреблении стандартной очищенной воды ($p = 0,03$). Уровни других биомаркеров (осмоляльность плазмы, биоимпеданс и изменение массы тела) не показали значимых различий при оценке регидратации с использованием двух видов воды. Однако анализ с использованием смешанной модели подтвердил влияние щелочной воды на вязкость крови при высокой скорости сдвига по сравнению со стандартной очищенной водой ($p = 0,0213$) с учетом таких переменных, как возраст и исходные значения.

Выводы

В данном исследовании было выявлено статистически значимое различие в показателях вязкости цельной крови при сравнении электролизованной воды с высоким уровнем рН и стандартной очищенной воды, измеренных в период восстановления после дегидратации, вызванной интенсивными физическими упражнениями.

Ключевые слова

- Питьевая вода
- Регидратационные растворы
- Инфузионная терапия
- Физическая кондиция человека
- Вязкость крови

Актуальность исследования

Вода является незаменимым для жизни веществом, а гидратация играет важную роль в поддержании физической работоспособности человека, а также в профилактике хронических заболеваний. Известно, что обезвоживание является фактором, влияющим на физическую работоспособность человека, поэтому были выработаны нормативы, касающиеся возмещения потерь жидкости для многих профессий, связанных с высокой физической активностью, в том числе - для спортсменов [1]. Нарушения, обусловленные дегидратацией, могут приводить к неблагоприятным последствиям, таким как перенапряжение сердечно-сосудистой системы, тепловая перегрузка, неврологические нарушения и метаболические расстройства [2].

Как было установлено, уменьшение массы тела на 2% или более вследствие потоотделения во время тренировок было связано с нарушением аэробной и физиологической работоспособности. В то время как данное явление связано с метаболическими, неврологическими, сердечно-сосудистыми и терморегуляторными нарушениями, основным ограничивающим фактором спортивной работоспособности является так называемый “сердечный сдвиг, или дрейф”, свидетельствующий о сокращении функционального резерва регуляции сердечно-сосудистой системы, что проявляется в виде снижения ударного объема и среднего артериального давления в сочетании с увеличением частоты сердечных сокращений во время интенсивных или длительных тренировок [3]. Увеличение частоты сердечных сокращений в сочетании со снижением ударного объема крови, наблюдаемое во время тренировки, могут тесно коррелировать со степенью дегидратации [2]. Было показано, что обезвоживание повышает системное сосудистое сопротивление на $17 \pm 6\%$ при сравнении с состоянием эугидратации (оптимальном состоянии водного баланса) при длительной физической нагрузке ($p < 0,05$) [4].

В многочисленных исследованиях давалась оценка регидратации, которая проводилась во время тренировок с помощью напитков, в которые входила вода, кокосовая вода, соки, чай, минеральная вода, а также растворов, содержащих углеводы, электролиты и глицерин [5, 6, 7, 8, 9]. В большинстве этих исследований регидратационные напитки вводились перорально после спровоцированной дегидратации, а способность к регидратации для каждого напитка определялась путем измерения биомаркеров, проведением оценки уровня физической работоспособности и с помощью субъективных тестов (вопросников). Результаты одного исследования, участниками которого были 6 здоровых мужчин, позволили предположить, что высокие концентрации раствора, содержащего углеводы и электролиты, более эффективны в плане восстановления водного баланса после тренировки [5]. В другом исследовании сообщалось, что изменение массы тела и объема плазмы, измеряемые у 10 участников-футболистов, были выражены в меньшей степени при употреблении напитка, содержащего углеводы и глицерин, чем при введении углеводного напитка, что указывало на лучшую гидратацию при добавлении глицерина [6]. Другое исследование, в котором определялись биомаркеры гидратации, показало, что гидратация кокосовой водой значительно не отличается от восполнения жидкости с помощью воды [7]. Предполагается, что щелочная вода превосходит стандартную очищенную воду в отношении восстановления водного баланса и коррекции вязкости крови при высокой скорости сдвига в течение 2-х часов после обезвоживания, вызванного физическими упражнениями; однако в специальном исследовании с постановкой структурированных задач, в котором определялись значения одного или нескольких биомаркеров, не удалось установить маркер - "золотой стандарт" для оценки регидратации в периоде восстановления после тренировки. Поэтому мы разработали рандомизированное двойное слепое исследование с параллельными группами для описания и сравнения параметров и скорости регидратации при использовании электролизованной воды с высоким уровнем рН по сравнению со стандартной очищенной водой путем оценки последовательных измерений уровня специфического биомаркера - вязкости цельной крови при высокой скорости сдвига (первичная конечная точка исследования). Помимо измерений вязкости цельной крови при высокой скорости сдвига оценивались вторичные конечные точки: вязкость крови при низкой скорости сдвига, осмоляльность плазмы, биоимпеданс и изменения массы тела.

Методы

Данное исследование, проводившееся в центре Waterfront Technology Center (Камден, Нью-Джерси), было рандомизированным двойным слепым контролируемым исследованием с параллельными группами, в котором приняли участие 100 взрослых добровольцев (50 мужчин, 50 женщин) в возрасте от 25 до 49 лет. К исследованию были допущены здоровые взрослые некурящие участники с индексом массы тела, равным 29 или менее, и не принимающие каких-либо лекарственных препаратов в течение, по меньшей мере, одной недели до участия в исследовании. Из исследования были исключены беременные и кормящие женщины, женщины в периоде менструации во время скрининга или участницы, которые принимали оральные контрацептивы в течение 3 месяцев перед началом исследования. Участникам были даны указания воздерживаться от интенсивных нагрузок и употребления алкоголя, а также ограничить чрезмерное употребление кофеина (более 2 чашек объемом шесть унций) в течение не менее 24 часов до назначенной даты исследования. Данное клиническое исследование было одобрено Институциональным наблюдательным советом; на момент регистрации и до участия в данном исследовании от всех субъектов исследования было получено письменное информированное согласие. Исследование было зарегистрировано (Идентификатор в реестре ClinicalTrials.gov: NCT02118883) и проведено с соблюдением стандартов Надлежащей клинической практики и в соответствии с принципами Хельсинкской декларации.

Дизайн исследования

В исследовании использовались два разных регидратационных напитка, в состав которых входила стандартная бутилированная вода. В качестве контроля (КОН) использовалась вода с нормальным рН с минеральными вкусовыми добавками (Dasani®, The Coca-Cola Company, Атланта, Джорджия). В качестве экспериментального напитка применялась электролизованная щелочная вода с высоким уровнем рН (АЛК) с минеральными вкусовыми добавками (Essentia®, Essentia Water, LLC, Ботелл, Вашингтон). Все бутылки с водой хранились в одном помещении с контролируемым климатом и накрывались для предотвращения длительного воздействия света.

До начала исследования участникам разрешалось употреблять пищу и воду по желанию. После оценки исходного состояния участников попросили воздержаться от приема пищи или жидкости. Исходная оценка массы тела, биоэлектрического импеданса и показателей жизненно важных функций (сердечный ритм (ЧСС), систолическое артериальное давление (САД) и диастолическое артериальное давление (ДАД), частота дыхания, температура тела) была выполнена в начале исследования до начала тренировки. Для оценки вязкости цельной крови и осмоляльности плазмы производился забор венозной крови. После измерения исходных значений испытуемые выполняли умеренные аэробные упражнения (на выбор - беговая дорожка, стационарный велосипед или эллиптический тренажер) в теплом помещении (30 °С, относительная влажность - 70%) до достижения состояния обезвоживания. Продолжительность физических упражнений различалась у разных субъектов; однако был установлен стандартизированный целевой порог дегидратации - потеря массы тела до $2,0 \pm 0,2\%$, так как это отражало уровень физической нагрузки, приводящей к легкой дегидратации. Во время тренировки перед каждым измерением массы тела все участники тщательно снимали влагу с поверхности тела. Во время измерений массы тела испытуемые накладывались одноразовая бумажная маска с известным весом. По завершении цикла упражнений и достижении состояния обезвоживания участники исследования переместились в термо-нейтральную зону (21 °С, относительная влажность - 60%), где отдыхали в течение 20 минут. После отдыха оценивались показатели жизненно важных функций, вес и биоимпеданс. Кроме того, для оценки вязкости крови и осмоляльности плазмы были взяты образцы крови.

В предыдущем исследовании по оценке влияния перорального углеводного раствора на скорость абсорбции сообщалось о приблизительно 3%-ном снижении объема плазмы, наблюдаемом в течение 105 минут после употребления напитка [10]. В настоящем исследовании период наблюдения составлял 120 минут, который мы посчитали достаточным для того, чтобы можно было продемонстрировать какой-либо эффект регидратации в период восстановления. Период наблюдения длительностью 120 мин (T000 - T120) был разделен на 30-минутный период регидратации и 90-минутный период восстановления. Участникам была проведена пероральная регидратация растворами КОН или АЛК в первые 30 минут (T000 - T030). Масса воды, потребляемой в течение периода регидратации, рассчитывалась в соответствии с изменением массы тела участника в течение периода тренировки. Рекомендуемое количество регидратационного напитка составляло 20 мл на 1 кг массы тела пациента, то есть 2% от исходной массы тела, измеренной до упражнений. Объемы переливаемой в контейнеры воды измерялись с помощью прецизионной шкалы (Intelligent-Lab PD-3000, Intelligent Weighing Technology, Inc. Камарильо, Калифорния) "неослепленным" координатором, который не контактировал с участниками исследования и не был осведомлен о результатах на протяжении всего исследования. После упражнений каждый субъект должен был потреблять всю предназначенную ему воду в течение 30 минут (от T000 до T030) в соответствии с жаждой (*ad libitum*). В течение данного периода регидратации для оценки вязкости крови и осмоляльности плазмы были взяты образцы крови в контрольные моменты времени T015 и T030.

Дополнительные данные были собраны в течение 90-минутного периода восстановления (от T030 до T120) для оценки динамики измеренных параметров. Вязкость крови и осмоляльность плазмы

оценивали семь раз: в начале и через 6 последовательных временных интервалов (T000, T015, T030, T060, T090 и T120). Измерения биоимпеданса и массы тела проводились пять раз: в начале и через 4 последовательных временных интервала (T000, T045, T075 и T120). Показатели жизненно важных функций измерялись три раза: при определении исходных значений, а также в контрольные моменты времени T000 и T120. Схема, отображающая контрольные моменты времени и последовательность измерений для каждого биомаркера представлена на рис.1.

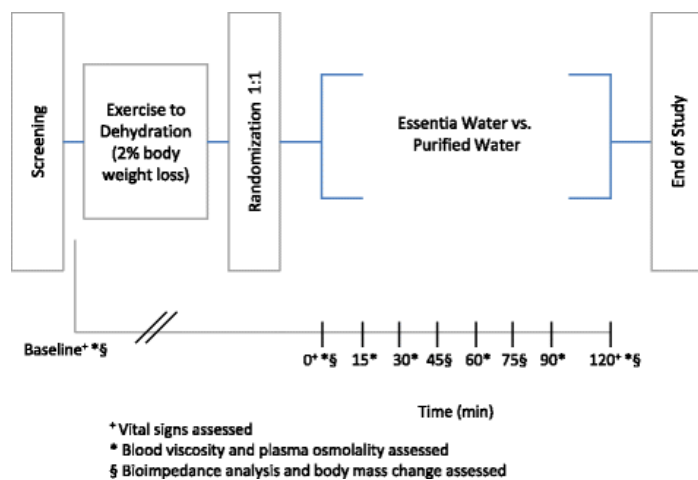


Рисунок 1.

Общая схема исследования (графическое представление алгоритма клинического исследования)

Измеряемые параметры

Вязкость цельной крови

Для количественной оценки уровня гидратации в сосудистом русле использовалась вязкость цельной крови - присущее жидкости свойство оказывать сопротивление перемещению потока. Вязкость крови оценивалась в физиологическом диапазоне скорости сдвига от 1 до 1000 c^{-1} с шагом 0,1 c^{-1} с использованием автоматического капиллярного вискозиметра (Hemathix SCV-200, Health Onvector, King of Prussia, Пенсильвания). Этот прибор был проверен с помощью вискозиметра типа конус-пластина и вискозиметра Куэтта в диапазоне разных скоростей сдвига [11]. Для каждого теста по определению вязкости крови забирали приблизительно 3 мл цельной крови. В течение 24 часов после забора крови каждый образец подвергался обработке и анализу при 37°C. Вязкость крови определялась в миллипуазах (1 сантипуаз [сП] = 1 миллипаскаль-секунда [мПа·с] = 10 миллипуазов [мП]). Полученные значения вязкости крови, измеренные при высокой скорости сдвига - 300 c^{-1} , были определены как вязкость крови в систолу, а значения, измеренные при низкой скорости сдвига - 5 c^{-1} , были указаны как вязкость крови в диастолу.

Осмоляльность плазмы

После забора образцов крови осмоляльность плазмы оценивали в течение 24 часов. Каждый образец центрифугировали при температуре 5 °C в течение 10 мин при 1000 g, затем плазменный компонент отправляли в эталонную лабораторию (Laboratory Corporation of America, Берлингтон, Северная Каролина), где проводился анализ с помощью осмометра, выполняющего измерение понижения (депрессии) температуры замерзания (Advanced Instruments, Норвуд, Массачусетс).

Биоэлектрический импеданс

Биоимпедансометрия проводилась на месте с использованием биоимпедансного анализатора (Quantum IV, RJL Systems, Клинтон, Мичиган). Участникам предлагалось принять положение лежа на спине, руки отвести от тела под углом 30°, при этом ноги не должны были соприкасаться. Электроды накладывались на правую руку и правую ногу каждого субъекта и снимались после

каждого измерения. Сигнальный электрод на руке испытуемого прикрепляли к коже в области пястно-фалангового сустава среднего пальца, а детектирующий электрод накладывали на кожу в области запястья. На ноге сигнальный электрод накладывался на кожу у основания второго пальца, а детектирующий электрод - на кожу верхней части голеностопного сустава. При каждом измерении регистрировались следующие показатели: импеданс, реактивное сопротивление, электроемкость, фазовый угол, общая вода организма, внутриклеточная вода и внеклеточная вода.

Масса тела

Индекс массы тела (ИМТ) измеряли с помощью напольных весов (HealthOMeter 349KLX, Pelstar, LLC, Мак-Кук, Иллинойс). Участники взвешивались в раздетом виде при сухой поверхности тела в халате с известным весом (для комфорта).

Определение размера выборки

Капиллярный сканирующий вискозиметр, используемый для оценки первичной конечной точки данного исследования, ранее использовался в исследовании по оценке дегидратации и регидратации с помощью воды с высоким рН у 15 практически здоровых пожарных. Изменчивость значений вязкости крови в систолу (вязкость при высокой скорости сдвига) и влияние регидратации высокощелочным раствором на значения вязкости крови в систолу, наблюдаемые в этой выборке в предыдущем исследовании, были использованы для определения размера выборки данного исследования [12]. В испытаниях с пожарными обезвоживание, развившееся на пожарно-тактических учениях с полным оборудованием, дало среднее значение вязкости в систолу, равное 42,7 мП; после регидратации среднее значение вязкости крови в систолу значительно снизилось - до 38,8 мП ($p = 0,003$). Стандартное отклонение, равное 2,6 мП, наблюдаемое на исходном уровне, использовалось при определении размера выборки в настоящем исследовании. Мы высказали предположение, что щелочной раствор с высоким рН (АЛК) будет на 40% эффективней при регидратации, чем контрольный раствор (КОН), то есть при регидратации КОН предполагалось снижение среднего значения вязкости крови в систолу до 40,5 мП, в то время как для АЛК предполагалось снижение среднего значения вязкости крови в систолу до 38,8 мП по сравнению с уровнем, измеренным при обезвоживании и равном 42,7 мП. Для обнаружения такого контраста было запущено исследование мощностью 90% с 5%-ной вероятностью ошибки первого рода. Это потребовало участия 100 человек, 50 - в группе КОН и 50 - в группе АЛК.

Статистический анализ

Статистическую обработку выполняли в системе SAS (Statistical Analysis System, версия 9.3, 2012, Кэри, Северная Каролина). Данные были проанализированы с использованием методов описательной и инференциальной статистики. Заранее были спланированы четыре отдельных анализа: сравнение процентного изменения значений биомаркеров, сравнение наклонов регрессионных линий, анализ методом абсолютных разниц и анализ с использованием смешанной модели.

Сравнение процентного изменения каждой измеренной величины проводилось во время регидратации и в период восстановления. Такой анализ должен был внести поправку на индивидуальные различия исходных значений и значений параметров, измеренных в момент времени T000. Например, процентное изменение параметра вязкости цельной крови (ВЦК) (конечной точки) за период времени от T000 до T120 рассчитывалось следующим образом:

$$\frac{\text{ВЦК}(T000) - \text{ВЦК}(T120)}{\text{ВЦК}(T000)}$$

Были вычислены средние значения для каждой группы и проведена оценка размера стандартных ошибок для каждого доверительного интервала, и на основе полученных различий были сделаны выводы.

Изучение и сравнение результатов по группам КОН и АЛК осуществлялось с помощью подгонки линии к набору данных с итоговыми результатами для каждой переменной; проводились статистические тесты по разнице в наклонах для каждой линии для того, чтобы определить, было ли значимым влияние лечения в целом на скорость регидратации в период восстановления. Процедура линейной регрессии (PROC REG) использовалась в SAS для оценки линии лучшего соответствия и параметров наклона и перехвата, а также для графического представления данных. Более быстрая регидратация отмечалась в группе, где определялся более крутой уклон линии, соответствующей данным в период времени между T000 и T120.

Также, для каждого измеренного параметра вычислялись абсолютные изменения относительно исходных значений и значений в каждый контрольный момент времени. Для каждой группы в отдельности были построены графики средних значений для каждого параметра, начиная с исходных значений и в каждый контрольный момент времени до T120 после начала регидратации. При графическом отображении данных для каждой конечной точки (по оси Y) в определенный период времени (по оси X) ожидалось первоначальное изменение значений относительно исходных значений и значений, полученных в момент времени T000, поскольку последние находились у максимальной точки обезвоживания или рядом с ней, и, следовательно, ожидалась точка перегиба кривой, отображающей параметры конечной точки. Вслед за этим ожидалось постепенное восстановление этих значений в период проведения регидратации. Ожидалось, что средние значения в момент времени T000 будут указывать на степень обезвоживания в каждой группе. Средние и стандартные ошибки должны были вычисляться для каждой временной точки, что позволило бы проводить тесты в любой момент времени, сравнивая группы лечения. Структурирование данных для каждой точки с 95% доверительными интервалами (с использованием среднего стандартной ошибки $\pm 1,96$) позволило бы тестировать различия в каждый момент времени.

Предварительно спланированный окончательный анализ выполнялся для валидации с помощью линейной модели, но с учетом результатов повторных измерений, генерируемых для результирующих переменных в каждый момент времени. В этом анализе результаты наблюдений обозначались как случайные эффекты в смешанной модели в разные моменты времени; также для анализа модель включала фиксированные эффекты, такие как лечение (например, АЛК по сравнению с КОН), возраст, исходные значения и потеря веса в конце тренировки (%). Затем с учетом этих ковариатов оценивали эффект лечения. Эффект лечения при сравнении АЛК и КОН был протестирован для каждой из результирующих переменных с помощью процедуры PROC MIXED в SAS.

Отображение данных ключевых результирующих переменных в каждый момент времени, начиная с исходных значений и в каждый контрольный момент времени до T120 после начала регидратации, представлены на рис. 2, 3, 4 и 5. Средние и стандартные ошибки были вычислены для каждой временной точки, что позволило проводить тесты в любой момент времени, сравнивая группы лечения. Структурирование данных для каждой точки с 95% доверительными интервалами (с использованием среднего стандартной ошибки $\pm 1,96$) позволило выявить разницу параметров в каждый момент времени. Как показано на рис. 2, 3, 4 и 5, для каждой группы 95% доверительные интервалы отображаются графически с помощью планок погрешностей. Как можно видеть, каждая пара доверительных интервалов, отображаемая для обеих групп, перекрывается.

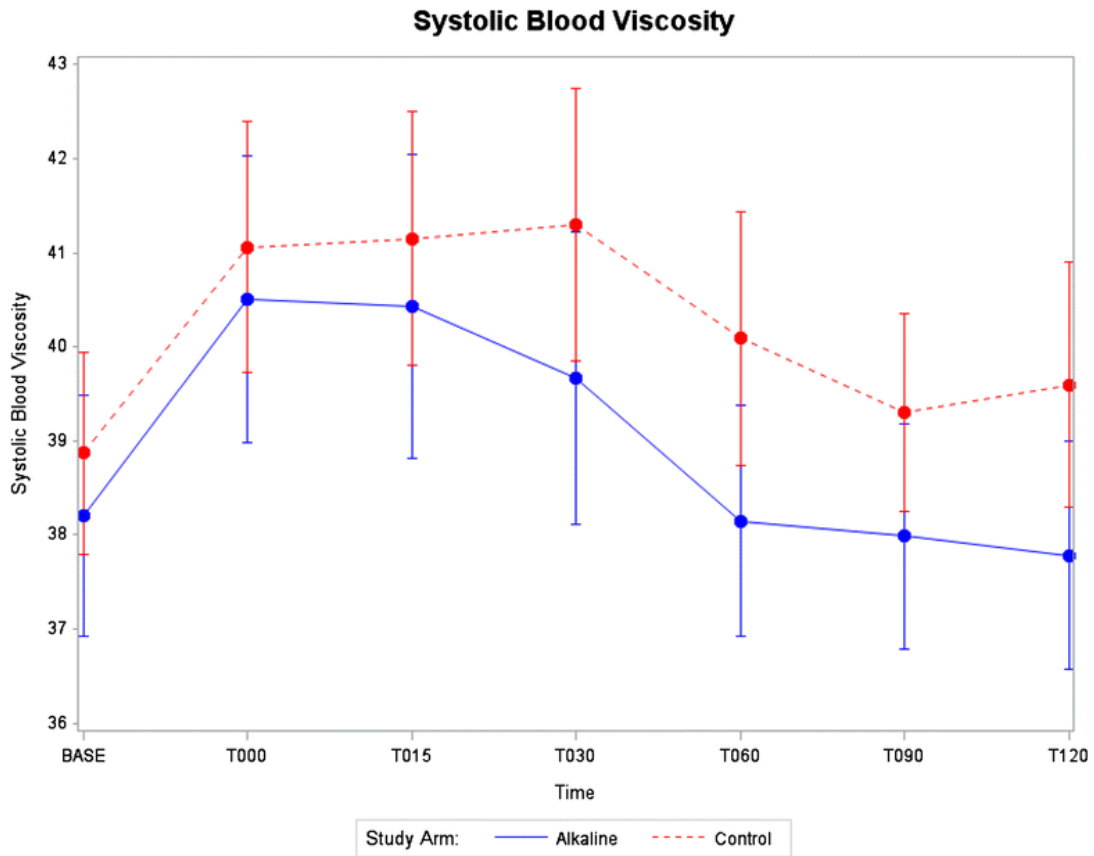


Рис.2

Значения вязкости крови в систолу в разные моменты времени в группах КОН и АЛК

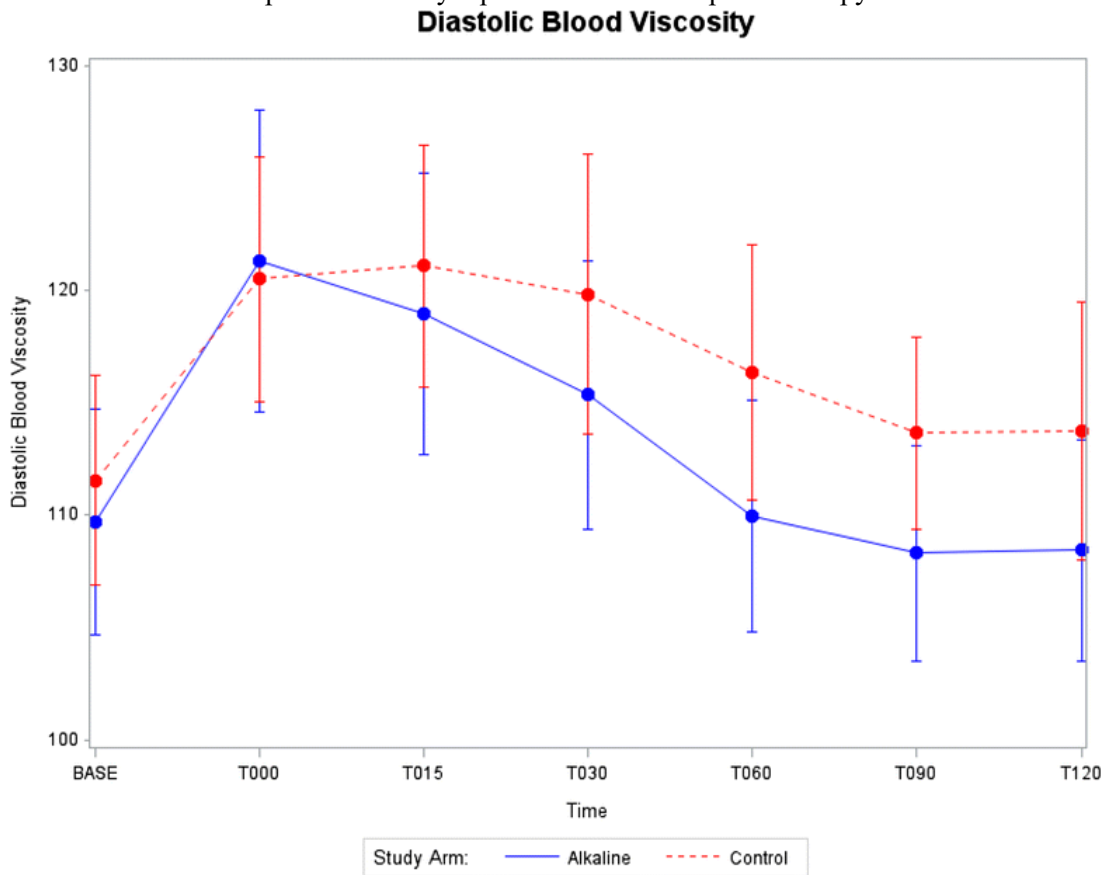


Рис.3

Значения вязкости крови в диастолу в разные моменты времени в группах КОН и АЛК

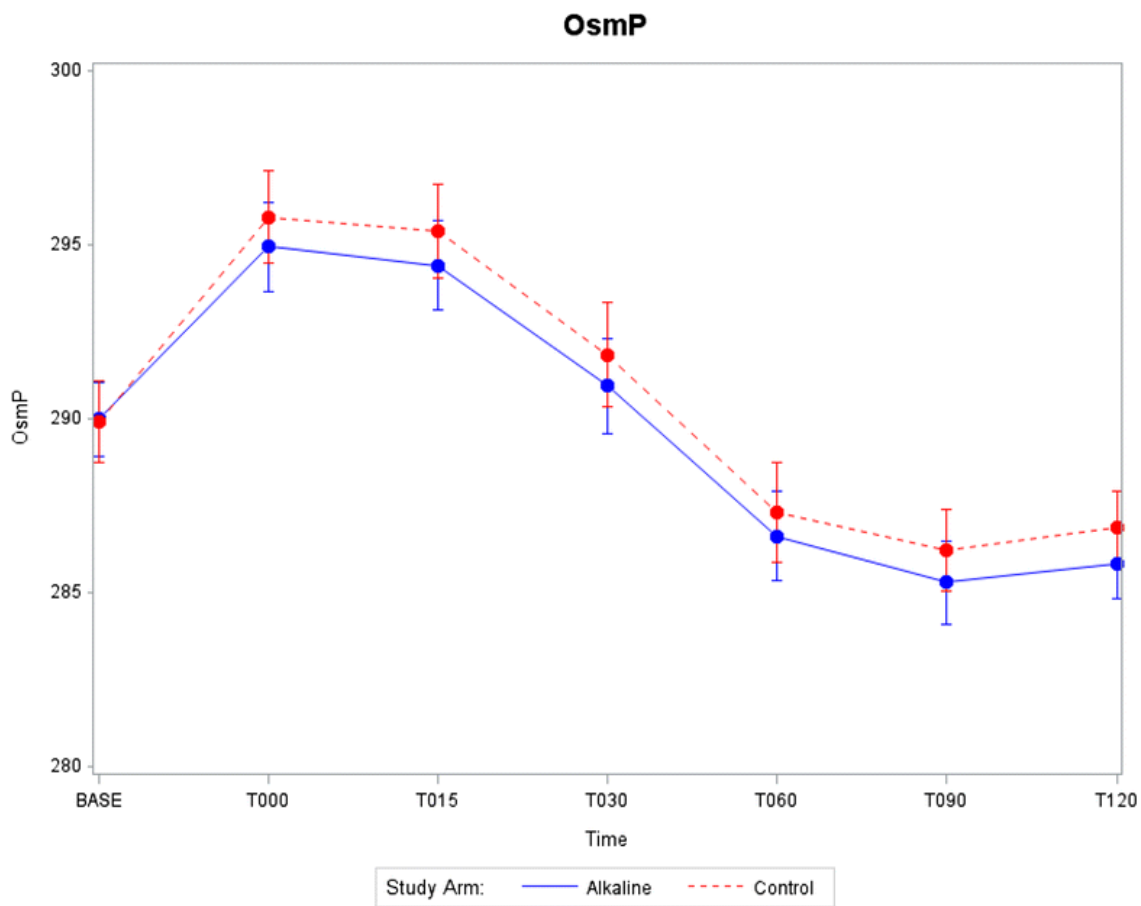


Рис.4
Значения осмоляльности плазмы в разные моменты времени в группах КОН и АЛК

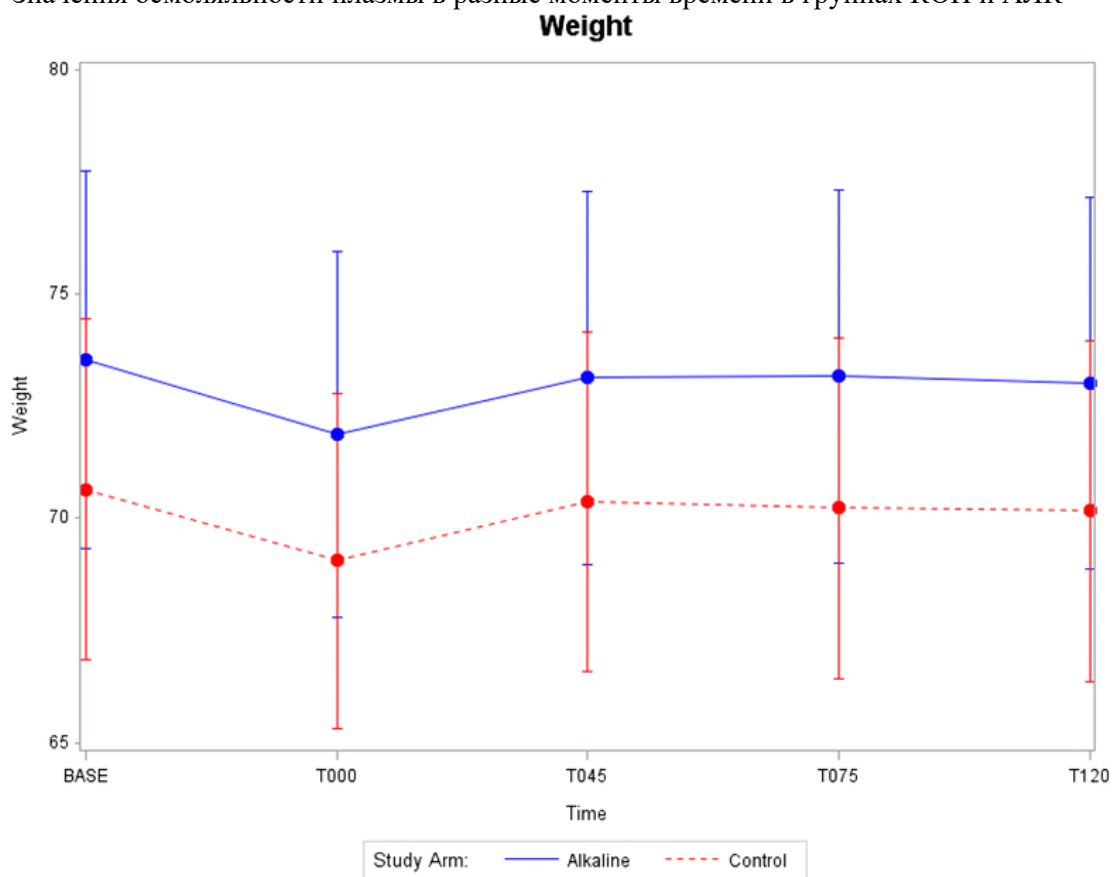


Рис.5
Вес тела в разные моменты времени в группах КОН и АЛК

Смешанные линейные модели учитывают корреляционную структуру, присущую данным при повторных измерениях, поскольку корреляция внутрииндивидуальных значений является более тесной, чем у межиндивидуальных значений. Поскольку для определения размера выборки использовалась только одна первичная конечная точка, все статистические тесты проводились при уровне значимости $\alpha = 0,05$; поправки Бонферрони не были задействованы. Для анализа смешанной модели использовался метод построения линейной модели, позволяющий генерировать значения повторных измерений для итоговой оценки. Эффект лечения был протестирован при учете следующих ковариат: момент времени, возраст, изменение веса при дегидратации, эффект взаимодействия полов в группах исследования, исходные значения вязкости крови в систолу, вязкости крови в диастолу и осмоляльности плазмы. Анализ всех результирующих переменных выполнялся с использованием смешанной модели, которая учитывала межиндивидуальные корреляции между значениями повторных измерений.

Результаты

Сто взрослых участников завершили исследование. Исследование потребовало для каждого испытуемого приблизительно 4-8 часов в один день (без последующих визитов). В таблице 1 показаны демографические данные для каждой группы исследования (КОН и АЛК), в том числе средний возраст и количество участников по признаку этнической принадлежности, которые были одинаковыми в обеих группах. В таблице 2 для каждой группы приведены исходные значения, измеренные до начала тренировки, в том числе вязкость крови в систолу и диастолу, гематокрит, осмоляльность плазмы, значения биоэлектрического импеданса, масса тела, систолическое и диастолическое давление крови, частота сердечных сокращений, частота дыхания и температура тела. Исходные значения в группах КОН и АЛК существенно не различались

Таблица 1

Демографические и другие базовые характеристики участников в группах

Демографические характеристики	КОН (n = 50)	АЛК (n = 50)
Половой состав (%)		
Женщины	25%	25%
Мужчины	25%	25%
Средний возраст (годы) (SD)	31,96 (6,46)	30,36 (5,52)
Расово-этнический состав (количество человек)		
Белые	27	23
Черные или афроамериканцы	14	20
Испаноязычные или латиноамериканцы	4	5
Азиаты/ уроженцы островов Тихого океана	5	2

Таблица 2

Исходные значения результирующих переменных

Переменная	Среднее	Стандартное отклонение	Мин	Макс
Вязкость крови в систолу [миллипуаз]	38.5	4.3	30.9	54.5
Вязкость крови в диастолу [миллипуаз]	110.6	17.5	76.6	170.8

Переменная	Среднее	Стандартное отклонение	Мин	Макс
Гематокрит [%]	43.1	3.1	37	50
Осмоляльность плазмы [мОсм/кг]	289.94	4.03	272	298
Анализ биоэлектрического импеданса				
Реактивное сопротивление	527	86	358	725
Емкостное сопротивление	69	12	48	118
Импеданс	532	86	362	729
Фазовый угол	7,5	1,1	4,9	10,6
Общая вода организма	39,2	8,7	25,1	60,9
Внутриклеточная вода	22	5,5	14,3	34,5
Внеклеточная вода	17,2	3,4	10,8	26,3
Вес тела [кг]	72,1	14,47	46,2	105,8
Систолическое АД [мм рт. ст.]	120	13	86	164
Диастолическое АД [мм рт. ст.]	76	8	50	92
Частота сердечных сокращений	65,8	11,3	37	93
Частота дыхания	16,2	2	12	20
Температура тела	97,8	0,8	95,1	99,5

Исследование длилось в среднем 4-8 часов (для каждого участника), в зависимости от продолжительности периода физической нагрузки, требуемой для достижения состояния обезвоживания. С момента регистрации до выписки за участниками исследования наблюдала дипломированная медсестра. За время исследования каких-либо нежелательных явлений не наблюдалось. Также не было обнаружено клинически значимых аномальных значений показателей жизненно важных функций и лабораторных оценок. Показатели систолического АД, диастолического АД, частоты сердечных сокращений, частоты дыхания и температуры тела регистрировались на исходном уровне, уровнях T000 и T120, что отражено в таблице 3. Средние значения показателей жизненно важных функций были одинаковыми в двух группах. Кроме того, средние значения параметров со стандартными отклонениями также приведены в таблице 3.

Таблица 3
Результаты в контрольные моменты времени

Маркеры гидратации		Исходные значения	T0	T15	T30	T45	T60	T75	T90	T120
ВКС [миллипуаз]	КОН	38.9 ± 3.9	41.1 ± 4.8	41.1 ± 4.9	41.3 ± 5.2		40.1 ± 4.9		39.3 ± 3.8	39.6 ± 4.7
	АЛК	38.2 ± 4.6	40.5 ± 5.5	40.4 ± 5.8	39.7 ± 5.6		38.2 ± 4.4		38.0 ± 4.3	37.8 ± 4.4
ВКД [миллипуаз]	КОН	111.6 ± 16.9	120.5 ± 19.7	121.1 ± 19.4	119.9 ± 22.4		116.4 ± 20.5		113.7 ± 15.5	113.7 ± 20.7
	АЛК	109.7 ± 18.1	121.4 ± 24.3	119.0 ± 22.6	115.4 ± 21.7		110.0 ± 18.5		108.3 ± 17.4	108.4 ± 17.8
ОП [мОсм/кг]	КОН	289.9 ± 4.3	295.8 ± 4.8	295.4 ± 4.93	291.8 ± 5.4		287.3 ± 5.1		286.2 ± 4.3	286.9 ± 3.7
	АЛК	290.0 ± 3.8	294.9 ± 4.6	294.4 ± 4.6	290.9 ± 4.9		286.6 ± 4.7		285.3 ± 4.3	285.8 ± 3.6
Биоимпеданс										
Реактивное сопротивление	КОН	529.6 ± 84.1	526.5 ± 83.8			536.8 ± 84.7		542.6 ± 85.8		541.4 ± 90.0
	АЛК	524.7 ± 87.9	511.8 ± 85.5			525.4 ± 92.4		528.2 ± 91.9		528.9 ± 97.5

Маркеры гидратации		Исходные значения	T0	T15	T30	T45	T60	T75	T90	T120
Электроемкость	КОН	69.1 ± 12.3	66.4 ± 8.7			69.7 ± 8.9		70.8 ± 8.3		72.2 ± 12.4
	АЛК	68.4 ± 11.5	66.6 ± 12.4			68.4 ± 8.4		69.2 ± 9.1		69.9 ± 9.1
Импеданс	КОН	534.4 ± 84.8	530.9 ± 83.9			541.4 ± 84.8		547.4 ± 86.0		537.6 ± 114.8
	АЛК	529.2 ± 88.0	517.6 ± 85.9			530.5 ± 92.2		533.4 ± 91.6		533.9 ± 87.3
Фазовый угол	КОН	7.5 ± 1.0	7.3 ± 1.0			7.5 ± 1.0		7.5 ± 0.9		7.7 ± 1.4
	АЛК	7.5 ± 1.3	7.4 ± 1.1			7.5 ± 1.1		7.6 ± 1.1		7.6 ± 1.1
ОВО	КОН	38.6 ± 8.8	38.1 ± 8.6			38.1 ± 8.6		37.8 ± 8.4		38.0 ± 8.7
	АЛК	39.8 ± 8.6	40.3 ± 8.6			39.8 ± 8.6		39.7 ± 8.5		39.5 ± 8.3
Внутриклеточная вода	КОН	21.7 ± 5.5	21.6 ± 5.4			21.5 ± 5.4		21.4 ± 5.3		21.5 ± 5.4
	АЛК	22.3 ± 5.5	22.6 ± 5.5			22.3 ± 5.5		22.3 ± 5.5		22.3 ± 5.3
Внеклеточная вода	КОН	16.8 ± 3.5	16.8 ± 3.4			16.6 ± 3.4		16.4 ± 3.3		16.5 ± 3.4
	АЛК	17.5 ± 3.4	17.7 ± 3.3			17.5 ± 3.3		17.4 ± 3.3		17.3 ± 3.2
Вес тела [кг]	КОН	70.7 ± 13.8	69.1 ± 13.5			70.4 ± 13.7		70.2 ± 13.7		70.2 ± 13.8
	АЛК	73.5 ± 15.1	71.9 ± 14.7			73.1 ± 15.0		73.2 ± 15.0		73.0 ± 15.0
Показатели жизненно важных функций										
Систолическое АД [мм рт. ст.]	КОН	118.9 ± 12.0	112.4 ± 11.9							115.1 ± 12.3
	АЛК	121.9 ± 13.4	114.5 ± 10.7							115.8 ± 13.9
Диастолическое АД [мм рт. ст.]	КОН	75 ± 8.8	75.1 ± 7.3							75.7 ± 8.8
	АЛК	77.4 ± 7.6	73.0 ± 8.5							75.0 ± 8.5
ЧСС [уд. в мин]]	КОН	66.1 ± 11.5	83.6 ± 15.5							69.9 ± 11.7
	АЛК	65.5 ± 11.2	84.8 ± 12.7							70.4 ± 12.8
ЧД [в мин]]	КОН	16.2 ± 2.0	17.4 ± 2.1							16.6 ± 1.8
	АЛК	16.1 ± 2.2	17.3 ± 1.6							17.2 ± 1.8
Температура тела [°С]	КОН	97.8 ± 0.9	98.7 ± 0.5							97.9 ± 0.6
	АЛК	97.7 ± 0.6	98.6 ± 0.6							97.9 ± 0.5

АЛК - щелочная вода; *КОН* - контроль; *ВКС* - вязкость крови в систолу; *ВКД* - вязкость крови в диастолу; *ОП* - осмоляльность плазмы; *ОВО* - общая вода организма; *АД* - артериальное давление; *ЧД* - частота дыхания; *ЧСС* - частота сердечных сокращений

Процентное изменение показателей, измеренных в период T000 - T120, было вычислено для каждого результирующего параметра, что отражало уровень гидратации в период регидратации и в период восстановления после достижения стандартизированного порога дегидратации с учетом поправки на индивидуальные различия значений исходного уровня и значений в момент времени T000. Испытуемые выступали в качестве собственного контроля, а межиндивидуальная вариабельность конечных точек была смягчена путем деления разницы значений, полученных в состоянии обезвоживания (T000 мин) и в конечном состоянии регидратации (T120 мин), на значение для каждого субъекта в состоянии дегидратации (T000 мин.).

После регидратации и восстановления среднее значение изменения параметра вязкости крови в систолу при высокой скорости сдвига 300 с^{-1} у пациентов группы КОН, составляло 3,36%, тогда как для группы АЛК этот показатель составил 6,30% ($p = 0,03$). В группе АЛК вязкость крови при высокой скорости сдвига значительно снижалась, а затем восстанавливалась в течение 120-

минутного периода регидратации на 87,50% больше, чем в группе КОН. После регидратации и восстановления среднее значение изменения параметра вязкости крови в диастолу (измеренное при низкой скорости сдвига 5 c^{-1}) в группе КОН составляло 5,43%, тогда как этот показатель в группе АЛК составил 9,35%. Кроме того, ни одна из результирующих переменных, выступающих в качестве маркеров гидратации, не показала значимых различий в группах исследования при сравнении изменений результирующих параметров (в процентах), измеренных в период регидратации (от T000 до T120 мин, таблица 4).

Таблица 4

Среднее значение изменений (в процентах) параметров, измеренных в период регидратации (при сравнении в моменты времени T000 и T120)

Конечная точка	КОН (n = 50)	АЛК (n = 50)	Значение p
Вязкость крови в систолу	3,36 [1,46, 5,26]	6,30 [4,51, 8,09]	0,026
Вязкость крови в диастолу [миллипуаз]	5,43 [2,41, 8,44]	9,35 [6,19, 12,50]	0,074
Осмоляльность плазмы	3,01 [2,72, 3,29]	3,07 [2,78, 3,36]	0,751
Анализ биоэлектрического импеданса			
Реактивное сопротивление	-2,85 [-4,44, -1,27]	-3,45 [-4,36, -2,53]	0,514
Емкостное сопротивление	-8,92 [-12,78, -5,06]	-6,09 [-8,96, -3,21]	0,240
Импеданс	-1,23 [-5,26, 2,81]	-3,27 [-4,34, -2,21]	0,329
Фазовый угол	-6,09 [-11,44, -0,74]	-3,43 [-5,67, -1,19]	0,360
Общая вода организма	1,25 [0,17, 2,33]	1,86 [1,26, 2,47]	0,325
Внутриклеточная вода	0,47 [-0,73, 1,68]	1,32 [0,79, 1,85]	0,200
Внеклеточная вода	2,20 [1,15, 3,25]	2,49 [1,63, 3,36]	0,663
Вес тела [кг]	-1,59 [-1,76, -1,42]	-1,59 [-1,74, -1,43]	0,963

Приведены средние значения для различий (в процентах) [95% доверительные интервалы]

Последующий анализ с использованием процедуры PROC REG в SAS обеспечивал оценку линии лучшего соответствия и параметров наклона и перехвата в каждой группе. Период регидратации, длившийся от T000 до T120, использовался для подгонки лучшей линии регрессии для каждой группы и конечной точки. Не было обнаружено значимых различий в параметре угла наклона между группами для каждой конечной точки. Анализ значений угла наклона использовался для оценки скорости изменений каждого параметра конечной точки в течение периода регидратации (см. Таблицу 5). Значимые различия между двумя группами должны были показать более высокую скорость гидратации. Наблюдалась тенденция к более быстрому снижению средних значений вязкости крови в систолу и диастолу (более высокий отрицательный наклон) для АЛК по сравнению с КОН. Было обнаружено, что импеданс увеличивается быстрее (большой положительный уклон) в группе АЛК по сравнению с группой КОН.

Таблица 5

Анализ наклонов регрессионных линий при последовательных измерениях результирующих параметров

Конечная точка	Наклоны линий регрессии			Криволинейная регрессия
	КОН (n = 50)	АЛК (n = 50)	p value	p value
Вязкость крови в систолу	-0.017	-0.026	0.356	0.555
Вязкость крови в диастолу	-0.071	-0.114	0.261	0.364
Осмоляльность плазмы	-0.086	-0.087	0.911	0.839
Анализ биоэлектрического импеданса				
Реактивное сопротивление	0.128	0.140	0.951	0.967
Емкостное сопротивление	0.048	0.028	0.374	0.830
Импеданс	0.064	0.133	0.741	0.828
Фазовый угол	0.003	0.002	0.605	0.978
Общая вода организма	-0.004	-0.006	0.912	0.969
Внутриклеточная вода	-0.001	-0.003	0.894	0.985
Внеклеточная вода	-0.014	-0.004	0.944	0.940
Вес тела [кг]	0.008	0.009	0.988	0.995

На рисунке 2 показаны изменения значений вязкости крови в систолу в зависимости от времени, при аналогичных значениях вязкости в начале исследования в обеих группах. Параллельные наклоны в двух группах, измеренные в период "исходный уровень - T000" (т. е. в конце периода физических упражнений и в начале периода регидратации), указывают на то, что в обеих группах был достигнут одинаковый уровень дегидратации во время физических упражнений. После момента T000, когда испытуемые начали принимать воду, более крутой наклон линии наблюдался в группе АЛК по сравнению с группой КОН, что свидетельствует об улучшении показателей в период восстановления при сравнении с исходными значениями, измеренными до начала тренировки. В момент времени T060 (середины периода восстановления) средние значения вязкости в систолу у субъектов группы АЛК возвращались к исходному уровню, то есть уровню до начала тренировки, тогда как показатели в группе КОН не возвращались к исходному уровню даже в момент времени T120. Эти данные отражены на графике и совпадают с изменениями при сопоставлении процентных изменений вязкости крови в систолу. Однако наблюдаемые различия, которые расценивались как значимые при сравнении процентных изменений в период от T000 до T120, не были обнаружены при определении абсолютной разницы при 95% доверительных интервалах, как показано на рисунке 2, вероятно, из-за выраженных межиндивидуальных различий.

Аналогичные результаты наблюдались при оценке вязкости крови в диастолу, как показано на рисунке 3. Значения в начале исследования были практически одинаковыми в обеих группах. Скорость роста значений, обнаруженных во время тренировки при сравнении с исходными значениями и в момент времени T000, была аналогичной для обеих групп лечения. Исходя из величины средних значений вязкости крови в диастолу, можно говорить о большей скорости

регидратации в группе АЛК по сравнению с группой КОН с невозвращением к исходным значениям средней вязкости в диастолу в группе КОН в момент времени T120 (рис.3).

Анализ с использованием смешанной модели показал значимость лечения раствором АЛК при сравнении с КОН в отношении вязкости крови в систолу ($p = 0,02$). Эффективность лечения АЛК по сравнению с КОН не была признана значимой для других показателей эффективности - вязкости крови в диастолу, осмоляльности плазмы или параметров биоэлектрического импеданса. Анализ с использованием смешанной модели подтвердил значимые различия в отношении влияния растворов АЛК на вязкость крови, демонстрируя, что с учетом влияния различных ковариат в смешанной модели напитков АЛК оказывает статистически значимое влияние на вязкость крови в систолу по сравнению с КОН. При повторном анализе с наблюдением временных изменений значений переменных в смешанной модели, эффект лечения оставался значимым в группе АЛК для показателя вязкости крови в систолу ($p = 0,02$); однако эффект взаимодействия связи лечение/время в отношении вязкости крови в систолу не был значимым.

Обсуждение

В данном рандомизированном двойном слепом исследовании с параллельными группами проводилось сравнение эффективности регидратации при использовании растворов АЛК с КОН. Предварительно спланированный анализ процентных изменений параметров, измеренных в период, длившийся с момента наступления состояния дегидратации (T000) до окончания периода восстановления (T120), позволил сравнить две группы со смягчением влияния межиндивидуальной вариабельности. По параметру вязкости крови в систолу раствор АЛК продемонстрировал значительно более эффективную регидратацию, чем КОН ($p = 0,03$), и этот результат сопоставим с данными, полученными при анализе с использованием смешанной модели.

В последние годы усилился интерес к изучению биомаркеров гидратации, однако сравнительная полезность маркеров зависит от условий окружающей среды и приложенных стимулирующих воздействий в данном исследовании. Даже в исследованиях по изучению реакции на острую дегидратацию, вызванную физической нагрузкой, не был установлен биомаркер-"золотой стандарт" для состояния гидратации [13, 14, 15]. В данном исследовании параметр вязкости крови использовался в качестве первичной конечной для оценки уровня гидратации в сосудистом русле, и обезвоживание, вызванное физическими упражнениями, оказывало влияние на этот показатель. В нескольких ранее проводимых исследованиях сообщалось о повышении вязкости крови после упражнений [16, 17]. Сообщалось, что у 20 здоровых взрослых участников исследования после 15-минутной субмаксимальной нагрузки увеличивался уровень вязкости крови [18]. По данным ранее проведенного клинического исследования с участием 47 женщин (тренированных в видах спорта на выносливость и нетренированных участниц) средний уровень вязкости крови после 1 часа максимальных физических нагрузок увеличивался на 12,6%, в то время как повышение гематокрита составило 8,9% [19]. Значения вязкости крови не статичны, они резко изменяются в зависимости от скорости сдвига. Скорость сдвига рассчитывается путем деления скорости кровотока на диаметр просвета сосуда. При быстром протекании крови на пике систолы увеличивается скорость сдвига и происходит относительное разжижение крови, так как эритроциты рассеиваются. При высоких скоростях сдвига на вязкость крови в систолу влияют показатели гематокрита и деформируемость эритроцитов, тогда как при низких скоростях сдвига на вязкость крови в диастолу влияет агрегация эритроцитов [20]. По этой причине вязкость крови в систолу может выступать в роли маркера гидратации.

Ключевое различие между электролизованной щелочной водой с высоким уровнем рН (АЛК) и стандартной питьевой водой, очищенной фильтрами обратного осмоса, используемой в качестве

контроля (КОН) в этом исследовании - степень щелочности. В исследовании с участием 1136 японских женщин Murakami и соавт. обнаружили, что диетическая кислотная нагрузка была независимо ассоциирована со значительным увеличением систолического давления (САД) и диастолического давления (ДАД), липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) и общим уровнем холестерина, индекса массы тела (ИМТ) и окружностью талии [21]. Авторы предположили, что неблагоприятные метаболические факторы риска развития сердечно-сосудистых заболеваний могли быть вызваны легким метаболическим ацидозом, который увеличивает выработку кортизола. Neil сообщил о значительном увеличении уровня рН крови при употреблении богатых минералами напитков (АЛК) [22]. В другом исследовании Neil и соавт. показали, что у десяти мужчин-велосипедистов отмечалась более быстрая и эффективная общая гидратация при употреблении напитков АЛК по сравнению с обычной бутилированной водой (КОН). Определялись такие показатели гидратации, как удельный вес мочи, диурез, концентрация белка в сыворотке крови и задержка воды в организме [23]. В обоих исследованиях эффект наблюдался, по меньшей мере, через неделю после обычного потребления щелочной воды. Несмотря на то, что исследования Neil и соавт. не были механистическими, в них предполагалось, что щелочность крови изменилась в результате прямой абсорбции щелочных минералов и что задержка воды в сосудистом русле была обусловлена всасыванием в кровь дополнительного количества минералов [22]. В более позднем исследовании, проводимом с той же группой участников, было высказано предположение о том, что повышение внеклеточного рН может косвенно влиять на содержание калия в крови [24].

В отдельном исследовании, использующем протокол дегидратации, вызванной физическими упражнениями, для сравнения влияния двух регидратационных напитков на маркеры окислительного стресса было показано, что при регидратации с помощью напитка, содержащего углеводы и электролиты, или при употреблении воды снижался уровень малонового диальдегида, который является общим маркером окислительного стресса; в состоянии обезвоживания уровень малонового диальдегида изменялся [25]. Нарушения тока крови приводит к состоянию окисления, при котором накапливаются активные формы кислорода. Эритроциты особенно уязвимы для окислительного воздействия и, так как они содержат железо, сами способны производить свободные радикалы [26]. Процесс самоокисления происходит, когда окисленный гемоглобин деградирует с высвобождением супероксидных ионов. Одновременно с этим закисное железо (Fe^{2+}) гемоглобина окисляется до трехвалентного железа (Fe^{3+}), образуя метгемоглобин, который неспособен транспортировать кислород [27]. Пероксидные соединения вызывают деградацию белков гемоглобина и высвобождению эритроцитами гема и железа. Силы, которые требуются для капиллярной перфузии, могут вызвать утечку ионов через клеточные мембраны, что приводит к дальнейшему повреждению липидного слоя [28]. Когда активные формы кислорода инициируют перекисное окисление липидных мембран, белки клеточной мембраны становятся молекулярно "сшитыми", эритроциты становятся более жесткими, и их деформируемость снижается [27]. Образование метгемоглобина, модификация и деградация белков, "сшивание" мембранных белков и димеров гемоглобина, перекисное окисление липидов и изменение поверхностных свойств - вот процессы, с помощью которых окислительный стресс функционально модифицирует эритроциты [26]. Эти механизмы вызывают изменение свойств эритроцитов, в том числе снижение текучести мембраны и повышение агрегации, что приводит к увеличению вязкости крови и нарушению кровотока [29].

Отдельное исследование с участием 154 человек (пациентов с сахарным диабетом в различных стадиях и здоровых лиц в группе контроля) показало, что у 76% практически здоровых субъектов окислительный стресс ассоциировался с повышенной вязкостью цельной крови, в группе преддиабета - у 95% пациентов и в группе диабета - у 92% испытуемых [30]. В этом клиническом исследовании изучались маркеры окислительного стресса эритроцитов - глутатион эритроцитов,

метгемоглобин и малоновый диальдегид. Корреляция между степенью окислительного стресса эритроцитов и изменениями вязкости крови у здоровых людей, а также у пациентов с диабетом и в состоянии преддиабета показывает, что параметр вязкости крови может быть маркером окислительного стресса.

Мы сделали предположение, что различия в значениях вязкости крови в систолу, полученные при употреблении напитков АЛК и КОН после обезвоживания, возможно, обусловлены влиянием активных форм кислорода на мембраны эритроцитов и их деформируемость. Для того чтобы выяснить, имеется ли прямая связь между введением раствора АЛК с высоким рН и уменьшением окислительного стресса, требуются дальнейшие исследования. Что касается осмоляльности плазмы как маркера гидратации, Armstrong в своем авторитетном обзоре заметил, что ни один из маркеров, включая осмоляльность плазмы, не может выступать в роли "золотого стандарта", который отвечал бы всем требованиям для оценки гидратации [15]. Он заявил, что изменение массы тела наиболее точно оценивает уровень гидратации в реальном времени, а в его обзоре биомаркеров, не рассматривающем вязкость крови, предполагается, что точность большинства маркеров гидратации не имеет системной основы. Параметр изменения массы тела отражает потерю воды в организме и зависит от степени потоотделения и уровня потребления воды. Следовательно, изменение массы тела часто определяется в течение тренировки, и этот показатель служит эталоном среди других маркеров гидратации. Несмотря на то, что многие исследователи считают осмоляльность плазмы одним из лучших доступных показателей, ни один из анализов, проведенных в данном исследовании, не показал значительных различий в значениях этого маркера в группах АЛК и КОН. Осмоляльность плазмы не учитывает влияние клеток крови, поэтому сложно оценить, какие факторы изменены - общая вода организма, потребление жидкости и потеря жидкости.

Анализ биоэлектрического импеданса широко используется для оценки статуса гидратации. С помощью этого инструмента можно определить объем воды во всех жидких средах организма. При сравнении групп АЛК с КОН в нашем исследовании ни один из показателей биоимпеданса не показал какого-либо эффекта лечения. Возможно, что острая дегидратация и регидратация, достигнутая в данном исследовании (2% массы тела), не обеспечивали возможность точной оценки, касающейся изменения содержания воды в организме, иначе это можно было бы определить путем определения изменений массы тела. Кроме того, при проведении анализа биоимпеданса у спортсменов с изначально низким содержанием жира в организме небольшое изменение содержания воды, может ошибочно расцениваться как изменение количества жира в организме [31]. Изменения объема внеклеточной жидкости и осмоляльности также могут ухудшить точность измерений биоэлектрического импеданса [32].

Аббревиатуры

АЛК:

Щелочная вода

ИМТ:

Индекс массы тела

КОН:

Контроль

ДАД:
Диастолическое артериальное давление

ЧСС:
Частота сердечных сокращений

ЛПНП:
Липопротеиды низкой плотности

PROC MIXED:
Процедура анализа линейной смешанной модели

PROC REG:
Процедура линейной регрессии

SAS:
Statistical Analysis System - Система статистического анализа

САД:
Систолическое артериальное давление

ВЦК:
Вязкость цельной крови

Заявления

Выражение признательности

Авторы выражают признательность Samuel Lee, Joylyn Martinez-Davis, Angela Nelson, Lisa Abate, Justin Johnson и Esther Lee за помощь в координации и осуществлении данного клинического исследования.

Финансирование

Данное исследование было поддержано грантом компании Essentia Water; бутилированная щелочная вода, использовавшаяся в данном исследовании, была предоставлена компанией Essentia Water. Компания Essentia Water не принимала участия в сборе данных на месте исследования, анализе и интерпретации данных.

Доступность материалов с данными исследования

Все данные должны оставаться конфиденциальными во исполнение договора между спонсором данного исследования и стороной, проводившей данное исследование. Исследование было зарегистрировано (Идентификатор в реестре ClinicalTrials.gov: NCT02118883) и проведено с соблюдением стандартов Надлежащей клинической практики и в соответствии с принципами Хельсинкской декларации.

Вклад авторов

Вклад авторов был следующим: Joseph Weidman, Ralph E. Holsworth Jr., Gregory Fridman и Daniel J. Cho разработали данное исследование; Daniel J. Cho осуществлял надзор за средним медперсоналом - координаторами исследований и персоналом, осуществляющим забор венозной

крови у участников исследования; Bradley Brossman анализировал полученные данные; Joseph Weidman, Gregory Fridman, Daniel J. Cho оформили рукопись, а Daniel J. Cho и John St.Сур отредактировали рукопись. Все авторы прочитали и утвердили окончательный вариант рукописи.

Конфликт интересов

Авторы заявили о конфликте интересов. Ralph E. Holsworth Jr. сообщает, что получил гонорар за консультацию и опционы на акции компании Essentia Water. Daniel J. Cho, Joseph Weidman и Bradley Brossman получили гонорар за консультацию от компании от Rheovector. John St.Сур сообщает о получении платы за редактирование рукописи. Gregory Fridman не сообщает о конфликте интересов.

Этическая экспертиза и согласие на участие в исследовании

Данное клиническое исследование было одобрено Институциональным наблюдательным советом; на момент регистрации и до участия в данном исследовании от всех субъектов исследования было получено письменное информированное согласие. Исследование было зарегистрировано (Идентификатор в реестре ClinicalTrials.gov: NCT02118883) и проведено с соблюдением стандартов надлежащей клинической практики и в соответствии с принципами Хельсинкской декларации

Открытый доступ.

Данная статья распространяется согласно условиям лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), которая разрешает неограниченное использование, распространение и воспроизведение на любом носителе при условии, что вы оставите одобрительный отзыв в отношении автора (-ов) и источника, с указанием ссылки на лицензию Creative Commons и информации о внесенных изменениях. Заявление об отказе в предоставлении бесплатного домена организацией Creative Commons (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) применимо к данным, доступным в этой статье, если не предусмотрено иное.