

РОЛЬ ОЗОНА В АДАПТИВНЫХ ИЗМЕНЕНИЯХ ЭРИТРОЦИТАРНОГО ЗВЕНА

Е. С. Билецкая, В. В. Зинчук



Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Проведен анализ литературных и собственных данных по исследованию механизмов физиологического действия озона на эритроцитарное звено системы крови. Обсуждается влияние озона на кислородсвязывающую функцию крови и ее прооксидантно-антиоксидантный баланс. Данный эффект этого газа в условиях изменения активности системы газотрансммиттеров (монооксида азота и сероводорода) и разных значений парциального давления кислорода и углекислого газа проявляется разным образом. Противогипоксическое действие озона осуществляется за счет стимуляции наработки газотрансммиттеров (NO и H₂S), реализующих свое влияние в том числе и через формирование сродства гемоглобина к кислороду, что обосновывает его использование в качестве средства, улучшающего адаптационные и антигипоксические возможности организма.

Ключевые слова: озон, кровь, кислород, газотрансммиттер, монооксид азота, сероводород.

Для цитирования: Билецкая, Е. С. Роль озона в адаптивных изменениях эритроцитарного звена / Е. С. Билецкая, В. В. Зинчук // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. 2023. Т. 21, № 5. С. 443-452. <https://doi.org/10.25298/2221-8785-2023-21-5-443-452>

Озон используется в реабилитации пациентов, перенесших COVID-19, что связано с его положительным воздействием на функционирование разных систем организма, включающее бактерицидный, фунгицидный, вирулицидный, противовоспалительный, иммунокорректирующий и антигипоксический эффекты, подтвержденные клиническими и экспериментальными наблюдениями [1]. Широко распространен вариант использования озона в качестве аутогемотерапии, основанной на заборе крови у пациента, насыщении ее озоном и последующем обратном введении в организм [2], однако механизмы действия данного газа в этих условиях (*in vitro*) остаются нераскрытыми.

В организме сродство гемоглобина к кислороду (СГК) в значительной степени определяет диффузию кислорода из альвеолярного воздуха в кровь, а затем на уровне капилляров – в ткань. Сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина (КДО) вправо направлен на компенсирование кислородной недостаточности, а в условиях окислительного стресса, когда нарушена утилизация кислорода тканями, влияет на активность процессов свободнорадикального окисления [3]. Имеются единичные работы о непосредственном эффекте О₃ на СГК. Так, воздействие О₃ (1 или 3 промилей) на образцы крови пациентов не изменяло доставку кислорода, включая СГК и концентрацию 2,3-дифосфоглицерата (2,3-ДФГ) в эритроцитах. Однако в исследовании пациентов с периферической окклюзией артерий озонированная аутогемотрансфузия (реинфузия 100 мл аутологичной крови, предварительно подвергнутой воздействию О₃ в течение 10 минут), повышало значение р50_{станд.}, а уровень 2,3-ДФГ существенно не менялся [4]. Наблюдается снижение СГК в опытах *in vitro* при добавлении О₃ в концентрации 6,5; 13; 26; 78 мкг/л в образцы крови пациентов с облитерирующим атеросклерозом сосудов и сахарным диабетом второго типа. Введение данного фактора крысам после

кровопотери (забор 3 мл крови из хвостовой артерии) приводит к росту активности Na⁺/K⁺-АТФ-азы в эритроцитах, что указывает на развитие компенсаторных процессов, вероятно, за счет роста концентрации 2,3-ДФГ, уменьшающей СГК, а также за счет снижения концентрации АТФ [5].

В нашем исследовании установлено, что инкубация крови (3 мл), забранной от лабораторных крыс, с озонированным изотоническим раствором 0,9% NaCl (1 мл), в котором концентрация озона составляла 2, 6, 10 мг/л, соответственно, в течение 30 и 60 минут способствует изменениям кислородтранспортной функции (КТФ) крови [6]. При максимальной концентрации (10 мг/л) озона отмечается наибольший прирост рО₂. Показатель значения СГК р50_{реал} при воздействии данным газом возрастает. Отмечается его увеличение при концентрации озона 2 мг/л до 31,6 [28, 6; 36,1] (p<0,05) мм рт. ст. (при экспозиции 30 минут) и до 32,2 [28,5; 37,9] мм рт. ст. (p<0,05) (при экспозиции 60 минут) в сравнении с контролем. С увеличением концентрации озона отмечается уменьшение СГК, что способствует большей степени сдвига кривой диссоциации оксигемоглобина вправо.

Использование О₃ демонстрирует широкую вариабельность эффектов его применения, что может быть обусловлено особенностью реализации этого воздействия, различием в дозах и условиях, в которых он вводится. Активация метаболизма организма наблюдается даже при введении очень низких доз О₃, которое сопровождается повышением содержания в крови свободного и растворенного кислорода, интенсификацией активности ферментов, катализирующих аэробные процессы окисления углеводов, липидов и белков с образованием энергетического субстрата АТФ [7]. Озон обладает выраженным противогипоксическим эффектом, который объясняют улучшением реологических свойств крови, повышенной отдачей оксигемоглоби-

ном кислорода тканям и увеличением скорости микроциркуляции. Сеанс озонотерапии приводит к улучшению реологии крови у пациентов с комплексной патологией не только непосредственно после процедур, но и в течение двух месяцев после курса, что обусловлено снижением микровязкости мембран, минимальной прочности агрегатов и скорости спонтанной агрегации эритроцитов, возрастанием их деформируемости [8].

Согласно полученным нами данным, действие озона увеличивает содержание таких газотрансмиттеров, как монооксид азота (NO) и сероводород (H₂S), что имеет значение для модификации кислородсвязывающих свойств крови [6]. Наблюдается рост NO₃⁻/NO₂⁻ – в плазме крови в группе лабораторных животных с концентрацией озона 10 мг/л на 94% (p<0,05) в сравнении с контролем, а уровень H₂S увеличивается на 71% (p<0,05).

Механизм выявленной нами модификации SGK связан с изменением содержания таких газотрансмиттеров, как NO и H₂S. Эффект озона на SGK реализуется как непосредственно через вклад в образование H₂S и функционирование L-аргинин-NO системы, так и через модификацию функциональных свойств гемоглобина. Газотрансмиттер NO – аллостерический эффектор SGK. Образуемые им при взаимодействии с гемопротеидом метгемоглобин и нитрозогемоглобин повышают его сродство к кислороду, а нитрозилгемоглобин его снижает, положение кривой диссоциации оксигемоглобина определяется соотношением этих производных. Газотрансмиттеры представляют собой класс физиологически активных веществ, выполняющих в клетках сигнальную функцию и с высокой специфичностью участвующих в межклеточной и внутриклеточной коммуникации. Наблюдаемый рост газотрансмиттеров (NO, H₂S), несомненно, вносит вклад в изменение кислородтранспортной функции крови.

Изменения состояния прооксидантной системы крови проявляются в увеличении уровня малонового диальдегида, диеновых конъюгатов, а также в активации антиоксидантной системы, что подтверждается ростом активности каталазы, концентрации ретинола и α-токоферола [9]. Физиологическая активность O₃ в организме есть результат изменения свободно-радикального статуса в ответ на поступление активных кислородных и озоновых метаболитов от внешнего источника. Известно, что добавление озонированного изотонического раствора 0,9% NaCl 0,4 мл с концентрацией O₃ 400, 800, 1200 мкг/л к образцам крови беременных с угрожающим выкидышем вызывает рост как первичных, так и конечных продуктов ПОЛ (перекисного окисления липидов) (уровень ДК (диеновых конъюгатов) в крови в 2,4 раза выше, чем у здоровых беременных) [10]. При действии озон-кислородной смесью с концентрацией O₃ 10-100 мкг/л на образцы крови собак установлено, что минимальные концентрации O₃ (10 и 20 мкг/л) не вызывают сдвига липопероксидации относительно

исходного равновесного состояния, а при более высоких дозах O₃ (начиная с концентрации 50 мкг/л) интенсивность образования конечных продуктов ПОЛ нарастает [11]. При введении крысам после кровопотери отмывтых эритроцитов (0,5 мл) и озонированного изотонического раствора 0,9% NaCl (2 мл с концентрацией O₃ 2 мг/л), происходит увеличение содержания малонового диальдегида (МДА) в эритроцитах на 15% по сравнению с контролем, наблюдается повышение активности антиоксидантных ферментов супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионпероксидазы [12].

Известна способность O₃ активировать процессы ПОЛ в ходе окисления биологических субстратов, что по механизму обратной связи стимулирует механизмы антиоксидантной защиты организма. Отмечающиеся нарушения динамического равновесия при воздействии высоких концентраций O₃ вызывают развитие оксидативного стресса, тогда как при низких концентрациях это не приводит к росту образования свободных радикалов [13]. Кроме того, он воздействует на кислородозависимые процессы организма: способен стимулировать энергетический обмен путем оптимизации утилизации кислорода, энергетических субстратов в энергопродуцирующих системах, повышать энергетическую эффективность тканевых окислительных процессов, отмечается интенсификация активности ферментов, катализирующих аэробные процессы окисления углеводов, липидов и белков с образованием энергетического субстрата АТФ. Можно предположить, что в выявленном нами эффекте O₃ участвует и сдвиг КДО вправо, способствующий улучшению потока кислорода в ткани, а в условиях окислительного стресса, когда нарушена утилизация кислорода тканями, влияет на активность процессов свободнорадикального окисления.

Применение нитроглицерина в условиях воздействия на NO-генерирующую систему приводит к усилению эффекта озона на КТФ крови. В этой и последующих сериях использовался O₃ с концентрацией 6 мг/л, время экспозиции составляло 30 минут. Нитроглицерин увеличивает рO₂ на 25% (p<0,05), SO₂ на 14% (p<0,05), показатель р50_{реал} на 14% (p<0,05) по сравнению с группой, получавшей только O₃ [14]. Добавление L-аргинина, L-NAME и их комбинации к образцам крови не изменяет исследуемых параметров. В работах некоторых исследователей при введении озонированного изотонического раствора 0,9% NaCl на разных моделях наблюдалось увеличение показателей КТФ [11]. Согласно полученным результатам, в данном эффекте озона имеет значение рост концентрации 2,3-ДФГ в эритроцитах и увеличение образования NO, исходя из роста его концентрации. Нитроглицерин, согласно нашим результатам, усиливает эффект озона на SGK, а также на рO₂ и SO₂, что предполагает участие NO-зависимых механизмов внутриэритроцитарной системы в формировании кислородсвязывающих свойств крови [14].

Озон может оказывать влияние на синтез NO разными путями, в частности, за счет усиления экспрессии белков теплового шока [15]. Нитроглицерин способствует росту концентрации газотрансмиттеров NO и H₂S [14]. Так, при добавлении данного препарата в заданных условиях концентрация нитрат/нитритов существенно увеличивалась (на 184%, $p < 0,05$ по сравнению с группой, в которую вводили только озон). Введение нитроглицерина и L-аргинина приводит к росту газотрансмиттера H₂S (на 35 и на 41%, $p < 0,05$).

Выявленный нами эффект озона на СГК реализуется как непосредственно через воздействие на экспрессию NO-синтазы в эритроцитах, так и через модификацию функциональных свойств гемоглобина [14]. Следует отметить, что при действии O₃ отмечается рост концентрации H₂S, который усиливается при добавлении нитроглицерина. NO, CO и H₂S участвуют в защите организма от окислительного стресса, вызванного активными формами кислорода и азота [16], а также выполняют роль аллостерического фактора гемоглобина, который изменяет его сродство к кислороду. Озон уменьшает СГК, реализуя свое действие посредством повышения концентрации нитрат/нитритов и H₂S. Изменения функциональной активности форменных элементов крови под действием озона могут быть обусловлены перестройкой внутриклеточного метаболизма. Известно, что эритроциты имеют системы, обеспечивающие синтез газотрансмиттеров (NO и H₂S).

Действие озона изменяет конформацию макромолекул, липопротеидных комплексов мембран эритроцитов, в частности, через NO-зависимые механизмы и путем продукции H₂S. Последний может связываться с метгемоглобином, образуя сульфгемоглобин, который совместно с NO-производными гемоглобина может изменять положение КДО. Газотрансмиттеры вносят вклад в модификацию СГК, которая достигается через разные механизмы: образование дериватов гемоглобина, модуляцию внутриэритроцитарной системы формирования КТФ крови. Участие NO-зависимых механизмов внутриэритроцитарной системы в изменении кислородсвязывающих свойств крови при действии озона подтверждается результатами наших исследований, в которых показано уменьшение СГК при введении нитроглицерина и отсутствие сдвига кривой диссоциации оксигемоглобина при введении ингибитора фермента NO-синтазы (L-NAME) [14].

В условиях модификации образования NO показатели ПОЛ (МДА, ДК) и антиоксидантной защиты (каталаза, ретинол, α -токоферол) существенно не изменяются [14]. Низкие концентрации O₃ не вызывают интенсификации процесса липопероксидации, но при высоких дозах интенсивность образования ДК, МДА и оснований Шиффа существенно возрастает [11]. Под влиянием O₃ происходит активация свободнорадикального окисления, а затем по принципу положительной обратной связи активизируются ме-

ханизмы антиоксидантной защиты [7]. Высокие дозы озона в эксперименте на крысах вызывают повреждение легких, однако после введения L-аргинина отмечается ингибирование активности миелопероксидазы нейтрофилов, тогда как при добавлении L-NAME данный эффект отсутствует. Внутривнутрибрюшинное введение озона (концентрация 1 мг/кг) в условиях ишемического повреждения тонкой кишки приводит к росту активности супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы, а также в целом антиоксидантной активности [17].

Ингибитор синтеза H₂S пропаргилглицин уменьшает эффект озона на КТФ крови и снижает парциальное давление кислорода (pO₂) и степень насыщения гемоглобина кислородом (SO₂). Показатель СГК p50_{реал} при этом уменьшается на 14% ($p < 0,05$) [18]. Хотя при добавлении гидросульфида натрия не усиливается воздействие этого газа на данные параметры, но его комбинация с нитроглицерином увеличивает влияние озона на кислородтранспортную функцию крови. Эритроциты, а также компоненты плазмы принимают активное участие в метаболизме H₂S, контролируя его концентрацию. Эта сигнальная молекула метаболизируется в красных кровяных клетках при участии гемоглобина с образованием тиосульфатов и гидрополисульфидов, участвующих в биосигнализации [19].

H₂S участвует в окислительной модификации белковых молекул посредством сульфгидрации через H₂S-опосредованное окисление цистеина до персульфилов, способствуя их химической реорганизации [19]. Кроме того, H₂S способствует активации дисфосфоглицератмутаза, стимулирующей синтез 2,3-ДФГ и уменьшающей СГК. Взаимодействие гемоглобина с данным газом приводит также к образованию сульфгемоглобина, который снижает СГК. H₂S, в отличие от NO, действует не как типичная сигнальная молекула, но, взаимодействуя с ним, может выступать модулятором NO-сигнальной активности. H₂S в комбинации с донором NO (нитроглицерином) увеличивает эффект озона на показатели КТФ крови [18]. Комбинированная обработка донорами NO и H₂S обеспечивает необходимую NO-сигнальную активность за счет образования динитрозильных комплексов железа с персульфидными лигандами в клетке [19]. Эндогенный H₂S может влиять также на разные изоформы NO-синтазы, приводя к модуляции физиологических эффектов.

Пропаргилглицин уменьшает уровень нитрат/нитритов в условиях действия озона, а гидросульфид натрия приводит к их росту [18]. NaHS и нитроглицерин в комбинации способствуют росту H₂S в плазме крови. NaHS увеличивает уровень H₂S на 65%, ($p < 0,05$). Механизм данного явления основан на усилении фосфорилирования конститутивной изоформы NO-синтазы с последующим увеличением продукции NO. Надо подчеркнуть, что H₂S опосредует восстановление нитритов до NO через ксантиноксидазу.

Пропаргилглицин не изменяет параметры прооксидантно-антиоксидантного баланса, а

доноры H_2S и NO увеличивают активность каталазы [18]. Сульфгидрация, опосредованная H_2S , представляет собой защитный механизм в условиях окислительного стресса. Согласно данным Е. В. Голубкиной и соавт. [20], генерация H_2S в естественных условиях может быть недостаточной для обеспечения прямого антиоксидантного ответа, что предполагает участие иных механизмов, связанных с кислородсвязывающими свойствами крови, при окислительном стрессе, индуцированным действием озона. В то же время стоит отметить увеличение активности каталазы при введении гидросульфида натрия и его комбинации с нитроглицерином, что может быть связано с усилением гидросульфидом натрия эффектов NO , синтез которых создает условия для поддержания окислительно-восстановительного баланса и сохранения целостности клеточной мембраны [21].

Выявлен усиливающий эффект озона на КТФ при воздействии непосредственно на суспензию эритроцитов, который проявляется в росте pO_2 , SO_2 [22]. Отмечается сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина вправо. Добавление донора NO (нитроглицерина) усиливает эффект на показатели транспорта кислорода в суспензии эритроцитов, а введение донора H_2S не приводит к подобным изменениям.

Эритроциты содержат конститутивную изоформу NO -синтазы, которая продуцирует NO [23]. В плазме содержатся нитриты/нитраты в значительной концентрации, однако при ингибировании эритроцитарной NO -синтазы их уровни значительно снижаются, что доказывает экспорт NO из эритроцитов через анионообменник 1 в форме вторичных форм азота, с которыми не может связаться гемоглобин, что обеспечивает свободный пул NO [24]. Наши данные показывают, что добавление экзогенного донора NO (нитроглицерина) усиливает влияние O_3 на КТФ эритроцитарной суспензии, однако донор H_2S ($NaHS$ -гидросульфид натрия) данным эффектом не обладает. Высвобождение NO из эритроцитов регулируется уровнем pO_2 в крови [25], а добавление O_3 способствует росту данного параметра. Согласно нашим данным, эритроциты реагируют на действие озона независимо от присутствия лейкоцитов и тромбоцитов.

Добавление озона увеличивает концентрации МДА и ДК, при этом нитроглицерин и $NaHS$ повышают активность каталазы на 46% ($p < 0,05$) и на 44% ($p < 0,05$), соответственно, в сравнении с эритроцитарной суспензией только с добавлением озона [23]. Воздействие O_3 на кровь приводит к образованию активных форм кислорода, вызывая активацию процессов ПОЛ клеточных мембран, и к развитию оксидативного стресса [26]. Постоянное воздействие на эритроциты множества разных оксидантов способствует формированию у них мощной системы внутриклеточной антиоксидантной защиты. В иерархии данных процессов особое место занимают газотрансмиттерные механизмы. В мембранной фракции эритроцитов озон как источник кислорода реагирует с NO , приводя к образованию силь-

нодействующего окислителя пероксинитрита [27]. Последующее окисление метгемоглобина пероксинитритом может привести к окислению аминокислот в белковой молекуле, усиливая прооксидантную активность в эритроцитах [28]. В свою очередь NO и H_2S также способны влиять на метаболизм антиоксидантных ферментов.

В условиях разных значений pO_2 и pCO_2 показано, что оксигенация усиливает влияние озона на КТФ крови [29]. $NaHS$, особенно нитроглицерин, увеличивают данный эффект – pO_2 и SO_2 на 26% ($p < 0,05$) и 23% ($p < 0,05$), соответственно, показатель $p50_{реал}$ возрастает на 25% ($p < 0,05$).

Отмечается участие NO и H_2S в изменениях КТФ крови при воздействии озоном при оксигенации. Гипероксия в условиях действия озона способствует росту содержания NO_3^- / NO_2^- и H_2S , а добавление нитроглицерина и гидросульфида натрия увеличивают эти показатели. Предварительная оксигенация под действием O_3 приводит к увеличению содержания NO_3^- / NO_2^- и H_2S в плазме крови на 25% ($p < 0,05$) и на 38% ($p < 0,05$), соответственно, по сравнению с группой, в которую вводили только озон. Нитроглицерин в условиях оксигенации способствует возрастанию концентрации NO_3^- / NO_2^- на 98% ($p < 0,05$) и H_2S на 60% ($p < 0,05$). Эритроциты за счет экспрессии каталитически активной синтазы монооксида азота (эндотелиальной NOS 3 типа 1), индуцируют синтез NO [30]. Эта субстанция – мощный митохондриальный регулятор, снижая сродство к кислороду цитохром-с-оксидазы, терминального акцептора электронов митохондриальной цепи транспорта электронов. Эритроциты участвуют в поддержании кислородзависимого баланса между образованием и окислением H_2S за счет своей способности его генерировать [31].

Озон может оказывать как про-, так и антиоксидантный эффект в зависимости от используемых концентраций. Так, в образцах крови, подвергнутых воздействию O_3 в дозе 160 мг/мл, наблюдается рост МДА [32] и активности каталазы. В условиях оксигенации при воздействии озона и добавлении нитроглицерина наблюдается рост МДА и ДК, а гидросульфид натрия подобного эффекта не оказывает. Изоформы NO рассматривают как динамические датчики клеточного окислительного стресса и регуляторы редокс-гомеостаза. Механизм положительного влияния озонотерапии у пациентов проявляется в повышении активности антиоксидантных ферментов сыворотки крови.

Если предварительная оксигенация существенно не меняет состояния прооксидантно-антиоксидантного баланса, а добавление нитроглицерина и гидросульфида натрия в данных условиях способствует увеличению ДК, МДА, активности каталазы, то предварительная дезоксигенация ослабляет влияние озона на КТФ крови, а нитроглицерин препятствует проявлению данного эффекта [33]. Дезоксигенация снижает эффект O_3 на показатели pO_2 и SO_2 в сравнении с группой, в которой выполнялось только озонирование, $p50_{реал}$ при этом уменьшается на 15%

($p < 0,05$). При гипоксии наблюдается ухудшение процессов тканевого трансапиллярного обмена кислорода, снижение возможностей микроциркуляторного русла для доставки кислорода в ткани [34]. Озон значительно улучшает микроциркуляцию за счет повышения функциональной активности капилляров, изменения физико-химических характеристик крови, в частности, кислородсвязывающих свойств крови [35]. Отмечаются изменения КТФ крови под влиянием озона в гипоксических условиях, а также при добавлении доноров газотрансмиттеров [34].

Действие озона в условиях гипоксии приводит к росту содержания $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ и H_2S , а добавление нитроглицерина и NaHS увеличивает эти показатели [33]. NO обеспечивает адаптацию организма к изменениям $p\text{O}_2$ через влияние на механизмы формирования функционального статуса эритроцитов. Кроме того, данный газотрансмиттер выступает основным регулятором тонуса сосудов и ангиопротектором, что обуславливает его влияние на местную микроциркуляцию [34]. Описаны сложные взаимоотношения между O_3 и группой ферментов NO -синтаз, генерирующих образование NO . O_3 может активировать индуцибельную NOS , что приводит к росту концентрации последнего, а также восстанавливает NO_2^- при низких значениях pH [36]. В этих механизмах участвует и другой газотрансмиттер H_2S . Эритроциты продуцируют эндогенный H_2S , используя в качестве субстрата 3-меркаптопируват [37]. Продукция H_2S в эритроцитах зависит от уровня NO в сыворотке крови [38]. Дезоксигенация под влиянием озона приводит к уменьшению показателей ПОЛ (МДА, ДК), а также снижению ретинола и α -токоферола, в том числе в группе с нитроглицерином. H_2S выполняет и антиоксидантные функции за счет активации ферментов, в том числе каталазы [39].

Предварительная обработка гипоксической газовой смесью существенно увеличивает эффект озона на КТФ крови. Нитроглицерин в этих условиях приводит к усилению эффекта данного газа и характеризуется ростом $p\text{O}_2$ на 18% ($p < 0,05$), SO_2 на 10% ($p < 0,05$), $p50_{\text{реал}}$ возрастает на 3% ($p < 0,05$) в сравнении с группой, которая подвергалась предварительной гипоксии и обработке озоном [40]. Можно было предположить по характеру изменения pH и $p\text{CO}_2$, что вследствие эффекта Бора произойдет сдвиг КДО влево, что, однако, не полностью соответствует нашим результатам.

Снижение концентрации ионов водорода и парциального давления углекислого газа ($p\text{CO}_2$) существенно уменьшает аффинность крови к кислороду, что затрудняет поступление кислорода в ткани на уровне капилляров и наоборот – при увеличении этих параметров (эффект Бора). В ряде работ показано, что гипоксия содействует увеличению концентрации 2,3-ДФГ в эритроцитах [41]. Кроме того, известно, что гипоксические условия усиливают генерацию синтеза озона [42], эффекты которого в свою очередь проявляются дозозависимо. Сле-

дует отметить способность пероксинитрита в гипоксической среде увеличивать значения показателей СГК $p50_{\text{реал}}$ и $p50_{\text{станд}}$ в сравнении с контрольной группой [27], что свидетельствует о существенном вкладе газотрансмиттера NO в регуляцию транспорта кислорода кровью. Вероятно, перечисленные факты приводят к усилению эффекта O_3 в заданных условиях [40].

Добавление нитроглицерина в этих условиях приводит к еще более выраженному усилению эффекта озона на КТФ крови, сопровождающемуся ростом содержания $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ и H_2S . NaHS подобного действия на кислородсвязывающие свойства крови не оказывает, несмотря на увеличение концентраций $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ и H_2S . Нитроглицерин и гидросульфид натрия в условиях гипоксии способствуют росту $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ и H_2S [40]. Биоактивность NO сохраняется в эритроцитах благодаря его взаимодействию с SH -группами в гемоглобине с образованием S -нитрозотиола, S -нитрозогемоглобина [43], высвобождение которых происходит при уменьшении СГК. В гипоксических условиях добавление O_3 , вероятно, приводит к увеличению содержания производных NO , а добавление нитроглицерина (донора NO) усиливает данный эффект. Озон также способствует увеличению уровня NO , активируя механизмы его образования в эритроците [44]. В ответ на действие озона в эритроцитах происходит изменение образования газотрансмиттеров NO и H_2S , которое влияет непосредственно как на модификацию свойств гемоглобина, так и опосредованно (через гемоглобин-независимые механизмы) на трансформацию структурной организации эритроцитарной мембраны. В этот процесс могут вовлекаться и молекулы углекислого газа.

Гиперкапния усиливает эффект озона на КТФ крови и характеризуется сдвигом КДО вправо, однако в этих условиях нитроглицерин и гидросульфид натрия не изменяют параметры газотранспортной функции крови, а гиперкапния усиливает эффект O_3 [45]. Повышение концентрации ионов водорода и $p\text{CO}_2$ существенно снижает аффинность крови к кислороду, что изменяет поступление его в ткани на уровне капилляров большого круга кровообращения. В проведенных нами исследованиях снижение pH и рост $p\text{CO}_2$, возникающие через реализацию механизмов эффекта Бора, приводят к усилению влияния озона на показатели КТФ крови, проявляющемуся в более выраженном сдвиге КДО вправо.

Механизмы внутриэритроцитарной регуляции СГК реализуются на разных уровнях: изменение липидно-белкового компонента мембраны эритроцитов, моделирующее действие аллостерических эффекторов на молекулу гемоглобина. В ответ на действие озона в эритроцитах происходит изменение образования NO и H_2S , которое влияет непосредственно как на модификацию свойств гемоглобина, так и опосредованно – через гемоглобин-независимые механизмы – на изменение структурной организации эритроцитарной мембраны (ее липидно-белкового компо-

нента). Как видим, в этот процесс вовлекается и молекула углекислого газа, а именно, при повышении его парциального давления.

Газотрансмиттеры (NO и H₂S) в ряде случаев могут обладать синергичным действием, но при гиперкапнии этого эффекта не наблюдалось – отмечался рост содержания H₂S при отсутствии изменения активности L-аргинин-NO системы, не ведущей к увеличению концентрации NO, а предварительная гиперкапния с добавлением озона приводит к росту уровня H₂S [45], что может быть связано с повышением продукции 3-меркаптопируват-сульфуртрансферазы в этих условиях, которая способствует синтезу H₂S в эритроцитах [37]. В условиях предварительной гиперкапнии и введения озона отмечается увеличение уровня H₂S на 60% (p<0,05) без изменения содержания метаболитов NO в сравнении с группой, в которую вводили только озон. Наиболее выраженный рост нитрат/нитритов отмечается при добавлении нитроглицерина, а самый высокий уровень H₂S – при добавлении NaHS. Однако в последнем случае не отмечается изменений содержания нитрат/нитритов, что, возможно, связано с участием эритроцитарной карбоангидразы в регулировании их распределения между плазмой и эритроцитами в этих условиях [46]. При добавлении нитроглицерина и NaHS наблюдается рост NO и H₂S, что обусловлено их взаимно сопряженным влиянием на синтез друг друга [16].

Предварительная гиперкапния не устраняет воздействия озона на процессы свободнорадикального окисления, доноры газотрансмиттеров также не изменяют исследуемые параметры [45]. Значимый рост МДА, ДК в группах с O₃ свидетельствует об активации процессов ПОЛ, что отражает определенный риск при применении озона в качестве терапевтического средства. Следовательно, гиперкапния не устраняет активирующее действие данного газа на процессы перекисидации липидов, а нитроглицерин и гидросульфид натрия, более того, усугубляют его. Повышение концентрации ретинола и α-токоферола, очевидно, связано как с их высвобождением из эритроцитарной мембраны, так и является следствием окислительного повреждения, вызванного озоном [47]. В то же время отмечается рост активности каталазы в гемолізатах при добавлении O₃. Данный газ, являясь донором кислорода, влияет на ферментативный компонент антиоксидантной системы эритроцитов, обеспечивающей защиту от активных форм кислорода [48], при нейтрализации которых образуется пероксид водорода, что и приводит к возрастанию активности каталазы.

Эффекты озона на КТФ на уровне эритроцитарного звена системы крови, которые реализуются за счет модификации внутриэритроцитарной системы регуляции SGK, что позволяет

обеспечивать потребности аэробного обмена на регионарном и системном уровнях, дополнены нашими исследованиями, которые представлены в виде обобщающей схемы (рисунок). Модификация SGK достигается в результате перестроек в мембранной организации эритроцитов (Band-3), изменения их метаболизма, ионного состава, действия ряда модуляторов (2,3-ДФГ, глутатион и др.), а также эффектов Бора и Холдейна. Согласно полученным нами данным, которые подробно изложены выше, в адаптивных изменениях функциональных свойств гемоглобина при действии O₃ и в условиях разных значений pO₂ и pCO₂ участвует система газотрансмиттеров (NO, H₂S), обеспечивая локальные потребности ткани в кислороде.

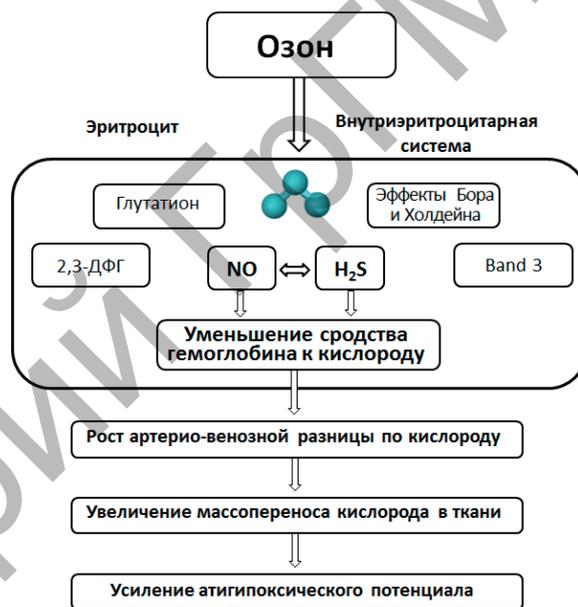


Рисунок – Антигипоксические механизмы действия озона, реализуемые через модификацию сродства гемоглобина к кислороду

Fig. – Antihypoxic mechanisms of ozone action through modification of hemoglobin affinity for oxygen

Таким образом, полученные нами результаты свидетельствуют о том, что воздействие озоном оказывает существенное влияние на регуляцию системных механизмов крови, ответственных за формирование кислородного гомеостаза организма. Выявленные закономерности расширяют представление об антигипоксическом действии озона, реализуемом через уменьшение SGK, улучшая кислородное обеспечение тканей. Существующие в настоящее время данные создают теоретическую основу для разработки новых путей повышения адаптационных резервов организма, коррекции гипоксического синдрома при разных нозологических состояниях, что актуально для практической медицины.

Литература

1. Эффективность включения озонотерапии в комплексные программы реабилитации постковидного синдрома / А. В. Цветкова [и др.] // Курортная медицина. – 2022. – № 2. – С. 152-158. – doi: 10.51871/2304-0343_2022_2_152. – edn: XDBGZG.
2. Autohemotherapy with ozone as a possible effective treatment for Fibromyalgia / A. Moreno-Fernández [et al.] // Acta Reumatol Port. – 2019. – Vol. 44, № 3. – P. 244-249.
3. Gell, D. A. Structure and function of haemoglobins / D. A. Gell // Blood Cells Mol Dis. – 2018. – Vol. 70. – P. 13-42. – doi: 10.1016/j.bcmd.2017.10.006.
4. Ozonized autohemotransfusion improves hemorheological parameters and oxygen delivery to tissues in patients with peripheral occlusive arterial disease / R. Giunta [et al.] // Ann Hematol. – 2001. – Vol. 80, № 12. – P. 745-748. – doi: 10.1007/s002770100377.
5. Роль озона в изменении активности Na-K-АТФазы и содержании АТФ и 2,3-ДФГ в эритроцитах крови при моделировании острой кровопотери у крыс / А. В. Дерюгина [и др.] // Биорадикалы и антиоксиданты. – 2016. – Т. 3, № 3. – С. 33-35. – edn: ZURGON.
6. Зинчук, В. В. Эффект озона на кислородтранспортную функцию крови при различных режимах воздействия в опытах *in vitro* / В. В. Зинчук, Е. С. Билецкая // Биофизика. – 2020. – Т. 65, № 5. – С. 915-919. – doi: 10.31857/S0006302920050099. – edn: LOKLCI.
7. Возможности метода озонотерапии в реабилитации онкологических пациентов (обзор литературы) / Н. А. Шаназаров [и др.] // Научное обозрение. Медицинские науки. – 2016. – № 2. – С. 113-119. – edn: WLXIBT.
8. Катюхин, Л. Н. Влияние курсового лечения инъекциями озонированного физиологического раствора на реологические свойства эритроцитов у больных с комплексной патологией / Л. Н. Катюхин // Физиология человека. – 2016. – Т. 42, № 6. – С. 100-105. – doi: 10.7868/S013116461605009X. – edn: XGWDHX.
9. Зинчук, В. В. Эффекты озона на кислотно-основное состояние крови в опытах *in vitro* / В. В. Зинчук, Е. С. Билецкая, И. Э. Гуляй // Новости медико-биологических наук. – 2018. – Т. 17, № 2. – С. 40-44. – edn: FMHZOE.
10. Гречканев, Г. О. Экспериментальное обоснование озонотерапии акушерских осложнений / Г. О. Гречканев, К. Н. Контрщикова, Т. С. Качалина // Нижегородский медицинский журнал. – 2002. – № 1. – С. 20-25.
11. Перетягин, С. П. Оценка эффекта различных доз озона на процессы липопероксидации и кислородобеспечение крови *in vitro* / С. П. Перетягин, К. Н. Контрщикова, А. А. Мартусевич // Медицинский альманах. – 2012. – № 2(21). – С. 101-104. – edn: OXQKVP.
12. Экспериментальное обоснование использования озона в трансфузионной терапии кровопотери у крыс / А. В. Дерюгина [и др.] // Известия Уфимского научного центра РАН. – 2017. – № 1. – С. 41-45. – edn: YHQYTT.
13. Гвозденко, Т. А. Биоокислительные технологии в пульмонологии (обзор литературы) / Т. А. Гвозденко, О. Ю. Кыткова, Е. М. Иванов // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2011. – № 41. – С. 79-81. – edn: ODABZB.
14. Зинчук, В. В. Эффект озона на кислородтранспортную функцию и прооксидантно-антиоксидантный баланс крови в условиях воздействия на NO-генерирующую систему в опытах *in vitro* / В. В. Зинчук, Е. С. Билецкая, И. Э. Гуляй // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. – 2021. – Т. 107, № 1. – С. 16-27. – doi: 10.31857/S0869813921010106. – edn: ZHPDOW.
15. Clinical utility of ozone therapy for musculoskeletal disorders / O. Seyam [et al.] // Med Gas Res. – 2018. – Vol. 8, № 3. – P. 103-110. – doi: 10.4103/2045-9912.241075.
16. Hydrogen sulfide and nitric oxide interactions in inflammation / M. L. Lo Faro [et al.] // Nitric Oxide. – 2014. – Vol. 41. – P. 38-47. – doi: 10.1016/j.niox.2014.05.014.
17. Prophylactic Ozone Administration Reduces Intestinal Mucosa Injury Induced by Intestinal Ischemia-Reperfusion in the Rat / O. Onal [et al.] // Mediat Inflamm. – 2015. – Vol. 2015. – Art. 792016. – doi: 10.1155/2015/792016.
18. Зинчук, В. В. Влияние озона на кислородсвязывающие свойства крови и ее прооксидантно-антиоксидантный баланс в условиях воздействия на H₂S-генерирующую систему / В. В. Зинчук, Е. С. Билецкая // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. – 2023. – Т. 109, № 6. – С. 760-770. – doi: 10.31857/S0869813923060080. – edn: WHITZF.
19. Фадюкова, О. Е. Влияние сероводорода на деформируемость эритроцитов крысы / О. Е. Фадюкова, В. Б. Кошелев // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2020. – Т. 169, № 6. – С. 664-667. – edn: GJGFVI.
20. Эволюция представлений о значении сероводорода в формировании возрастзависимой патологии / Е. В. Голубкина [и др.] // Вестник образования и развития науки Российской академии естественных наук. – 2021. – № 3. – С. 69-81. – doi: 10.26163/RAEN.2021.94.14.011. – edn: IMVBPO.
21. Nitric oxide synthase inhibition abrogates hydrogen sulfide-induced cardioprotection in mice / B. Sojitra [et al.] // Mol Cell Biochem. – 2012. – Vol. 360, № 1-2. – P. 61-69. – doi: 10.1007/s11010-011-1044-6.
22. Zinchuk, V. V. Effect of Ozone on Oxygen Transport and Pro-Oxidant-Antioxidant Balance of Red Blood Cell Suspension / V. V. Zinchuk, E. S. Biletskaya // Acta Chim Slov. – 2023. – Vol. 70, № 2. – P. 226-230. – doi: 10.17344/acsi.2023.8032.
23. Hematocrit, hemoglobin and red blood cells are associated with vascular function and vascular structure in men / S. Kishimoto [et al.] // Sci Rep. – 2020. – Vol. 10, № 1. – Art. 11467. – doi: 10.1038/s41598-020-68319-1.
24. Richardson, K. J. Beyond oxygen transport: active role of erythrocytes in the regulation of blood flow / K. J. Richardson, L. Kuck, M. J. Simmonds // Am J Physiol Heart Circ Physiol. – 2020. – Vol. 319, № 4. – P. H866-H872. – doi: 10.1152/ajpheart.00441.2020.
25. Regulation of erythrocyte Na⁺/K⁺/2Cl⁻ cotransport by an oxygen-switched kinase cascade / S. Zheng [et al.] // J Biol Chem. – 2019. – Vol. 294, № 7. – P. 2519-2528. – doi: 10.1074/jbc.RA118.006393.
26. Oxidative Stress in Ozone-Induced Chronic Lung Inflammation and Emphysema: A Facet of Chronic Obstructive Pulmonary Disease / C. H. Wiegman [et al.] // Front Immunol. – 2020. – Vol. 11. – Art. 1957. – doi: 10.3389/fimmu.2020.01957.
27. Зинчук, В. В. NO-зависимые механизмы внутриэритроцитарной регуляции сродства гемоглобина к кислороду: монография / В. В. Зинчук, Т. Л. Степура. – Гродно: ГрГМУ, 2016. – 176 с. – edn: YQMGPV.
28. Rifkind, J. M. Hemoglobin redox reactions and red blood cell aging / J. M. Rifkind, E. Nagababu // Antioxid Redox

- Signal. – 2013. – Vol. 18, № 17. – P. 2274-2283. – doi: 10.1089/ars.2012.4867.
29. Вклад газотрансмиттеров (NO, H₂S) в эффект озона на кислородзависимые процессы крови в условиях оксигенации / Е. С. Билецкая [и др.] // *Новости медико-биологических наук.* – 2021. – Т. 21, № 2. – С. 18-24. – edn: ISUWMZ.
 30. Red Blood Cell Function and Dysfunction: Redox Regulation, Nitric Oxide Metabolism, Anemia / V. Kuhn [et al.] // *Antioxid Redox Signal.* – 2017. – Vol. 26, № 13. – P. 718-742. – doi: 10.1089/ars.2016.6954.
 31. Catalase as a sulfide-sulfur oxido-reductase: An ancient (and modern?) regulator of reactive sulfur species (RSS) / K. R. Olson [et al.] // *Redox Biol.* – 2017. – Vol. 12. – P. 325-339. – doi: 10.1016/j.redox.2017.02.021.
 32. Melatonin alleviates oxidative stress in sleep deprived mice: Involvement of small intestinal mucosa injury / T. Gao [et al.] // *Int Immunopharmacol.* – 2020. – Vol. 78. – Art. 106041. – doi: 10.1016/j.intimp.2019.106041.
 33. Осиков, М. В. Процессы свободнорадикального окисления и перспективные направления коррекции редокс-статуса при изолированных переломах бедренной кости / М. В. Осиков, Е. В. Давыдова, К. С. Абрамов // *Современные проблемы науки и образования.* – 2019. – № 2. – С. 95. – edn: HVLROK.
 34. Зинчук, В. В. Особенности влияния озона на кислородзависимые процессы крови при гипоксических условиях / В. В. Зинчук, Е. С. Билецкая // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция.* – 2021. – Т. 20, № 3. – С. 70-76. – doi: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-70-76. – edn: GICMMF.
 35. Effects of ozone autohemotherapy on blood VEGF, TGF- β and PDGF levels after finger replantation / S. He [et al.] // *Ann Palliat Med.* – 2020. – Vol. 9, № 5. – P. 3332-3339. – doi: 10.21037/apm-20-1467.
 36. Jaitovich, A. A Brief Overview of Nitric Oxide and Reactive Oxygen Species Signaling in Hypoxia-Induced Pulmonary Hypertension / A. Jaitovich, D. Jourdeuil // *Adv Exp Med Biol.* – 2017. – Vol. 967. – P. 71-81. – doi: 10.1007/978-3-319-63245-2_6.
 37. H₂S-stimulated bioenergetics in chicken erythrocytes and the underlying mechanism / Z. Jin [et al.] // *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* – 2020. – Vol. 319, № 1. – P. R69-R78. – doi: 10.1152/ajpregu.00348.2019.
 38. Erythrocytic or serum hydrogen sulfide association with hypertension development in untreated essential hypertension / M. Zheng [et al.] // *Chin Med J (Engl).* – 2011. – Vol. 124, № 22. – P. 3693-3701.
 39. Tabassum, R. Potential for therapeutic use of hydrogen sulfide in oxidative stress-induced neurodegenerative diseases / R. Tabassum, N. Y. Jeong // *Int J Med Sci.* – 2019. – Vol. 16, № 10. – P. 1386-1396. – doi: 10.7150/ijms.36516.
 40. Влияние газотрансмиттеров и озона на микрореологию эритроцитов и кислородтранспортную функцию крови / В. В. Зинчук [и др.] // *Тромбоз, гемостаз и реология.* – 2022. – № 2. – С. 73-83. – doi: 10.25555/THR.2022.2.1022. – edn: CHMRTO.
 41. Madsen, H. Red cell 2,3-diphosphoglycerate and hemoglobin-oxygen affinity during normal pregnancy / H. Madsen, J. Ditzel // *Acta Obstet Gynecol Scand.* – 1984. – Vol. 63, № 5. – P. 399-402. – doi: 10.3109/00016348409156691.
 42. Торбин, А. П. Регенерация озона в смеси O-O₂-O₃ / А. П. Торбин, А. А. Першин, В. Н. Аязов // *Известия Самарского научного центра Российской академии наук.* – 2014. – Т. 16, № 4. – С. 17-21. – edn: SZGQQX.
 43. Hemoglobin β Cys93 is essential for cardiovascular function and integrated response to hypoxia / R. Zhang [et al.] // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2015. – Vol. 112, № 20. – P. 6425-30. – doi: 10.1073/pnas.1502285112.
 44. Ozone therapy: an overview of pharmacodynamics, current research, and clinical utility / N. L. Smith [et al.] // *Med Gas Res.* – 2017. – Vol. 7, № 3. – P. 212-219. – doi: 10.4103/2045-9912.215752.
 45. Зинчук, В. В. Особенности действия озона на кислородзависимые процессы крови в условиях гиперкапнии / В. В. Зинчук, Е. С. Билецкая, И. Э. Гуляй // *Биомедицинская химия.* – 2022. – Т. 68, № 3. – С. 212-217. – doi: 10.18097/PBMC20226803212. – edn: FNOBRD.
 46. Even and carbon dioxide independent distribution of nitrite between plasma and erythrocytes of healthy humans at rest / D. Tsikas [et al.] // *Nitric Oxide.* – 2013. – Vol. 31. – P. 31-37. – doi: 10.1016/j.niox.2013.03.002.
 47. Белых, И. А. Влияние малых доз озона на гипертонический лизис эритроцитов / И. А. Белых, Е. Л. Воловельская, В. Д. Зинченко // *Проблемы криобиологии.* – 2007. – Т. 17, № 3. – С. 237-242.
 48. Akbudak I. H. Investigation of the effects of major ozone autohemotherapy application on erythrocyte deformability and aggregation / I. H. Akbudak [et al.] // *Clin Hemorheol Microcirc.* – 2019. – Т. 71, № 3. – P. 365-372. – doi: 10.3233/CH-180417.

References

1. Tsvetkova AV, Koneva ES, Malutin DS, Lysak AM, Kostenko AA. Efficacy of including ozone therapy in comprehensive rehabilitation programmes for post-covid syndrome. *Resort medicine.* 2022;(2):152-158. doi: 10.51871/2304-0343_2022_2_152. edn: XDBGZG. (Russian).
2. Moreno-Fernández A, Macías-García L, Valverde-Moreno R, Ortiz T, Fernández-Rodríguez A, Molini-Estrada A, De-Miguel M. Autohemotherapy with ozone as a possible effective treatment for Fibromyalgia. *Acta Reumatol Port.* 2019;44(3):244-249.
3. Gell DA. Structure and function of haemoglobins. *Blood Cells Mol Dis.* 2018;70:13-42. doi: 10.1016/j.bcmd.2017.10.006.
4. Giunta R, Coppola A, Luongo C, Sammartino A, Guastafierro S, Grassia A, Giunta L, Mascolo L, Tirelli A, Coppola L. Ozonized autohemotransfusion improves hemorheological parameters and oxygen delivery to tissues in patients with peripheral occlusive arterial disease. *Ann Hematol.* 2001;80(12):745-8. doi: 10.1007/s002770100377.
5. Derjugina AV, Galkina JaV, Martusevich AA, Simutis IS, Bojarinov GA. Rol ozona v izmeneniji aktivnosti Na-K-ATFazy i sodержanii ATF i 2,3-DFG v eritrocitah krovi pri modelirovanii ostroj krovopoteri u kryss. *Bioradikalny i antioksidanty.* 2016;3(3):33-35. edn: ZURGOH. (Russian).
6. Zinchuk VV, Biletskaya ES. Different dosage effects of ozone on oxygen transport in blood during in vitro experiments. *Biophysics.* 2020;65(5):915-919. doi: 10.31857/S0006302920050099. edn: LOLKCI. (Russian).
7. Shanazarov NA, Lisovska NYu, Lisovsky EV, Shakirova AF. The capability of ozonotherapy in rehabilitation of oncological patients (literature review). *Nauchnoe obozrenie. Medicinskie nauki.* 2016;2:113-119. edn: WLXIBT. (Russian).
8. Katiukhin LN. Influence of the course of treatment by injections of ozonized saline on rheological proper-

- ties of erythrocytes in patients with complex pathology. *Human Physiology*. 2016;42(6):672-677. doi: 10.7868/S013116461605009X. edn: XGWDHX. (Russian).
9. Zinchuk VV, Bileckaja ES, Gul'jaj IJe. Effekty ozona na kislotno-osnovnoje sostojanije krovi v opytah in vitro. *Novosti mediko-biologicheskikh nauk*. 2018;17(2):40-44. edn: FMHZOE. (Russian).
 10. Grechkanov GO, Kontorshnikova KN, Kachalina TS. Eksperimentalnoje obosnovanije ozonoterapii akusher-skih oslozhnenij. *Nizhegorodskij medicinskij zhurnal*. 2002;1:20-25. (Russian).
 11. Peretyagin SP, Kontorshnikova KN, Martusevich AA. The assessment of the effect of different ozone doses on the processes of lipid peroxidation and oxygen supply of blood in vitro. *Medicinskij almanah*. 2012;2(21):101-104. edn: OXQKVP. (Russian).
 12. Deryugina AV, Galkina YaV, Simutis IS, Boyarinov GA, Martusevich AA. Experimental substantiation of the use of ozone in transfusion therapy of blood loss in rats. *Proceedings of the RAS Ufa Scientific Centre*. 2017;(1):41-45. edn: YHQYTT. (Russian).
 13. Gvozdenko TA, Kytikova OJu, Ivanov EM. Biooxidative technologies in pulmonology (review). *Bulletin physiology and pathology of respiration*. 2011;(41):79-81. edn: ODABZB. (Russian).
 14. Zinchuk VV, Biletskaya ES, Gulyai IE. Effect of ozone on blood oxygen transport function and pro-oxidant-antioxidant balance in under conditions of changing nitrogen monoxide formation in vitro experiments. *Russian Journal of Physiology*. 2021;107(1):16-27. doi: 10.31857/S0869813921010106. edn: ZHPDOW. (Russian).
 15. Seyam O, Smith NL, Reid I, Gandhi J, Jiang W, Khan SA. Clinical utility of ozone therapy for musculoskeletal disorders. *Med Gas Res*. 2018;8(3):103-110. doi: 10.4103/2045-9912.241075.
 16. Lo Faro ML, Fox B, Whatmore JL, Winyard PG, Whiteman M. Hydrogen sulfide and nitric oxide interactions in inflammation. *Nitric Oxide*. 2014;41:38-47. doi: 10.1016/j.niox.2014.05.014.
 17. Onal O, Yetisir F, Sarer AE, Zeybek ND, Onal CO, Yurekli B, Celik HT, Sirma A, Kilic M. Prophylactic Ozone Administration Reduces Intestinal Mucosa Injury Induced by Intestinal Ischemia-Reperfusion in the Rat. *Mediators Inflamm*. 2015;2015:792016. doi: 10.1155/2015/792016.
 18. Zinchuk VV, Biletskaya ES. Impakt of ozone on the oxyge affinity blood properties and prooxidant-antioxidant balance under effect of H₂S-generating system. *Russian Journal of Physiology*. 2023;109(6):760-770. doi: 10.31857/S0869813923060080. edn: WHITZF. (Russian).
 19. Fadyukova OE, Koshelev VB. Effect of Hydrogen Sulfide on Deformability of Rat Erythrocytes. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2020;169(6):725-728. doi: 10.1007/s10517-020-04965-9. edn: ATAZEK.
 20. Golubkina E, Trizno M, Dyukareva O, Trizno N, Lagutkina L. Evolution of concepts concerning significance of hydrogen sulfide in age-dependent pathology development. *Herald of Education and Science Development of Russian Academy of Natural Sciences*. 2021;(3):69-81. doi: 10.26163/RAEN.2021.94.14.011. edn: IMVBPO. (Russian).
 21. Sojitra B, Bulani Y, Putcha UK, Kanwal A, Gupta P, Kuncha M, Banerjee SK. Nitric oxide synthase inhibition abrogates hydrogen sulfide-induced cardioprotection in mice. *Mol Cell Biochem*. 2012;360(1-2):61-9. doi: 10.1007/s11010-011-1044-6.
 22. Zinchuk VV, Biletskaya ES. Effect of Ozone on Oxygen Transport and Pro-Oxidant-Antioxidant Balance of Red Blood Cell Suspension. *Acta Chim Slov*. 2023;70(2):226-230. doi: 10.17344/acsi.2023.8032.
 23. Kishimoto S, Maruhashi T, Kajikawa M, Matsui S, Hashimoto H, Takaeko Y, Harada T, Yamaji T, Han Y, Kihara Y, Chayama K, Goto C, Yusoff FM, Nakashima A, Higashi Y. Hematocrit, hemoglobin and red blood cells are associated with vascular function and vascular structure in men. *Sci Rep*. 2020;10(1):11467. doi: 10.1038/s41598-020-68319-1.
 24. Richardson KJ, Kuck L, Simmonds MJ. Beyond oxygen transport: active role of erythrocytes in the regulation of blood flow. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2020;319(4):H866-H872. doi: 10.1152/ajpheart.00441.2020.
 25. Zheng S, Krump NA, McKenna MM, Li YH, Hannemann A, Garrett LJ, Gibson JS, Bodine DM, Low PS. Regulation of erythrocyte Na⁺/K⁺2Cl⁻ cotransport by an oxygen-switched kinase cascade. *J Biol Chem*. 2019;294(7):2519-2528. doi: 10.1074/jbc.RA118.006393.
 26. Wiegman CH, Li F, Ryffel B, Togbe D, Chung KF. Oxidative Stress in Ozone-Induced Chronic Lung Inflammation and Emphysema: A Facet of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Front Immunol*. 2020;11:1957. doi: 10.3389/fimmu.2020.01957.
 27. Zinchuk VV, Stepuro TL. NO-zavisimyje mehanizmy vnutrieritocitarnoj reguljacii srodstva gemoglobina k kislorodu. Grodno: GrGMU; 2016. 176 p. edn: YQMGPV. (Russian).
 28. Rifkind JM, Nagababu E. Hemoglobin redox reactions and red blood cell aging. *Antioxid Redox Signal*. 2013;18(17):2274-83. doi: 10.1089/ars.2012.4867.
 29. Biletskaya ES, Zinchuk VV, Muravyov AV, Gulyai IE, Dorohin KM. Vklad gazotransmitterov (NO, H₂S) v jeffekt ozona na kislorodzavisimye processy krovi v uslovijah oksigenacii. *News of Biomedical Sciences*. 2021;21(2):18-24. edn: ISUWMZ. (Russian).
 30. Kuhn V, Diederich L, Keller TCS 4th, Kramer CM, Lückstädt W, Panknin C, Suvorava T, Isakson BE, Kelm M, Cortese-Krott MM. Red Blood Cell Function and Dysfunction: Redox Regulation, Nitric Oxide Metabolism, Anemia. *Antioxid Redox Signal*. 2017;26(13):718-742. doi: 10.1089/ars.2016.6954.
 31. Olson KR, Gao Y, DeLeon ER, Arif M, Arif F, Arora N, Straub KD. Catalase as a sulfide-sulfur oxido-reductase: An ancient (and modern?) regulator of reactive sulfur species (RSS). *Redox Biol*. 2017;12:325-339. doi: 10.1016/j.redox.2017.02.021.
 32. Gao T, Wang Z, Cao J, Dong Y, Chen Y. Melatonin alleviates oxidative stress in sleep deprived mice: Involvement of small intestinal mucosa injury. *Int Immunopharmacol*. 2020;78:106041. doi: 10.1016/j.intimp.2019.106041.
 33. Osikov MV, Davydova EV, Abramov KS. Processes of free-radical oxidation and promising directions of correction of redox status in isolated femoral bone fractures. *Modern problems of science and education*. 2019;(2):95. edn: HVLROK. (Russian).
 34. Zinchuk VV, Biletskaya ES. Features of ozone effect on oxygen-dependent processes in the blood under hypoxic conditions. *Regional Blood Circulation and Microcirculation*. 2021;20(3):70-76. doi: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-70-76. edn: GICMMF.
 35. He S, Chen W, Xia J, Lai Z, Yu D, Yao J, Cai S. Effects of ozone autohemotherapy on blood VEGF, TGF-β and PDGF levels after finger replantation. *Ann Palliat Med*. 2020;9(5):3332-3339. doi: 10.21037/apm-20-1467.

36. Jaitovich A, Jourdeuil D. A Brief Overview of Nitric Oxide and Reactive Oxygen Species Signaling in Hypoxia-Induced Pulmonary Hypertension. *Adv Exp Med Biol.* 2017;967:71-81. doi: 10.1007/978-3-319-63245-2_6.
37. Jin Z, Zhang Q, Wondimu E, Verma R, Fu M, Shuang T, Arif HM, Wu L, Wang R. H₂S-stimulated bioenergetics in chicken erythrocytes and the underlying mechanism. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2020;319(1):R69-R78. doi: 10.1152/ajpregu.00348.2019.
38. Zheng M, Zeng Q, Shi XQ, Zhao J, Tang CS, Sun NL, Geng B. Erythrocytic or serum hydrogen sulfide association with hypertension development in untreated essential hypertension. *Chin Med J (Engl).* 2011;124(22):3693-701.
39. Tabassum R, Jeong NY. Potential for therapeutic use of hydrogen sulfide in oxidative stress-induced neurodegenerative diseases. *Int J Med Sci.* 2019;16(10):1386-1396. doi: 10.7150/ijms.36516.
40. Zinchuk VV, Muravyov AV, Biletskaya ES, Mikhailov PV, Tikhomirova IA, Ostroumov RS, Zamyshlyayev AV. Effect of gasotransmitters and ozone on erythrocyte microrheology and blood oxygen transport function. *Tromboz, Gemostaz i Reologia.* 2022;(2):73-83. doi: 10.25555/THR.2022.2.1022. edn: CHMRT0. (Russian).
41. Madsen H, Ditzel J. Red cell 2,3-diphosphoglycerate and hemoglobin-oxygen affinity during normal pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1984;63(5):399-402. doi: 10.3109/00016348409156691.
42. Torbin A, Pershin A, Azyazov V. Ozone regeneration in the O₂-O₃ mixture *Izvestia of Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences.* 2014;16(4):17-21. edn: SZGQXX. (Russian).
43. Zhang R, Hess DT, Qian Z, Hausladen A, Fonseca F, Chaube R, Reynolds JD, Stamler JS. Hemoglobin β Cys93 is essential for cardiovascular function and integrated response to hypoxia. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015;112(20):6425-30. doi: 10.1073/pnas.1502285112.
44. Smith NL, Wilson AL, Gandhi J, Vatsia S, Khan SA. Ozone therapy: an overview of pharmacodynamics, current research, and clinical utility. *Med Gas Res.* 2017;7(3):212-219. doi: 10.4103/2045-9912.215752.
45. Zinchuk VV, Biletskaya ES, Gulyai IE. Features of ozone effect on the oxygen-dependent blood processes under hypercapnia conditions. *Biomeditsinskaya khimiya.* 2022;68(3):212-217. doi: 10.18097/PBMC20226803212. edn: FNOBRD. (Russian).
46. Tsikas D, Suttmöller K, Maassen M, Nacke M, Böhrer A, Mitschke A, Konrad H, Starke H, Hummler H, Maassen N. Even and carbon dioxide independent distribution of nitrite between plasma and erythrocytes of healthy humans at rest. *Nitric Oxide.* 2013;31:31-7. doi: 10.1016/j.niox.2013.03.002.
47. Belykh IA, Volovelskaya EL, Zinchenko VD. Effect of Low Ozone Doses on Erythrocyte Hypertonic Lysis. *Problems of Cryobiology.* 2007;17(3):237-242. (Russian).
48. Akbudak IH, Kucukatay V, Kilic-Erkek O, Ozdemir Y, Bor-Kucukatay M. Investigation of the effects of major ozone autohemotherapy application on erythrocyte deformability and aggregation. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2019;71(3):365-372. doi: 10.3233/CH-180417.

THE ROLE OF OZONE IN ADAPTIVE CHANGES IN THE ERYTHROCYTE LINK

E. S. Biletskaya, V. V. Zinchuk

Grodno State Medical University, Grodno, Belarus

The analysis of literature and our own data on the study of the mechanisms of the physiological action of ozone on the erythrocyte link of the blood was carried out. The present article discusses the effect of ozone on the oxygen-binding capacity of blood and its pro-oxidant-antioxidant balance. The effect of this gas manifests itself in different ways under conditions of changing activity of the system of gas transmitters (nitrogen monoxide and hydrogen sulfide) and at different values of the partial pressure of oxygen and carbon dioxide. The antihypoxic effect of ozone is provided with the participation of gas transmitters that realize their action through intraerythrocytic mechanisms of formation of hemoglobin affinity for oxygen, which justifies its use as a means of improving the adaptive and antihypoxic capabilities of the body.

Key words: *ozone, blood, oxygen, gas transmitter, nitrogen monoxide, hydrogen sulfide.*

For citation: *Biletskaya ES, Zinchuk VV. The role of ozone in adaptive changes in the erythrocyte link. Journal of the Grodno State Medical University. 2023;21(5):443-452. <https://doi.org/10.25298/2221-8785-2023-21-5-443-452>*

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа выполнена в рамках Государственной программы научных исследований Республики Беларусь № договора 30-24/549-21.

Financing. The work was carried out within the framework of the State Program for Scientific Research of the Republic of Belarus, Contract No. 30-24/549-21.

Об авторах / About the authors

*Билецкая Елена Степановна / Biletskaya Elena, e-mail: biletskaya.e@inbox.ru,

ORCID: 0000-0001-8967-2919

Зинчук Виктор Владимирович / Zinchuk Victor, e-mail: zinchuk@grsmu.by, ORCID: 0000-0002-3077-0474

* – автор, ответственный за переписку / corresponding author

Поступила / Received: 07.06.2023

Принята к публикации / Accepted for publication: 28.09.2023