

Министерство здравоохранения Республики Беларусь

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ  
«ГРОДНЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

**В. В. Зинчук, Е. С. Билецкая**

**МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ОЗОНА  
НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЭРИТРОЦИТОВ**

Монография

Под редакцией профессора В. В. Зинчука

Гродно  
ГрГМУ  
2025

УДК 612.223.12:612.127.2:612.111  
ББК 28.707.3  
3-63

Рекомендовано Редакционно-издательским советом ГрГМУ  
(протокол № 9 от 19.05.2025 г.)

Авторы: зав. каф. нормальной физиологии учреждения образования  
«Гродненский государственный медицинский университет»,  
д-р мед. наук, проф. В. В. Зинчук;  
асс. каф. нормальной физиологии учреждения образования  
«Гродненский государственный медицинский университет»,  
канд. мед. наук Е. С. Билецкая.

Рецензенты: зав. каф. биологической химии учреждения образования  
«Гродненский государственный медицинский университет»,  
д-р мед. наук, проф. В. В. Лелевич;  
проф. каф. биохимии учреждения образования «Гродненский  
государственный университет имени Янки Купалы»,  
д-р биол. наук, проф. И. Б. Заводник.

**Зинчук, В. В.**

3-63      Механизмы действия озона на функциональное состояние эритроцитов :  
монография / В. В. Зинчук, Е. С. Билецкая ; под ред. проф. В. В. Зинчука. –  
Гродно : ГрГМУ, 2025. – 140 с.  
ISBN 978-985-36-0004-9.

В монографии на основе анализа литературных и собственных данных обсуждаются аспекты механизмов действия озона на функциональное состояние эритроцитов. Анализируются эффекты озона на кислородсвязывающие свойства крови и её эритроцитарный компонент в условиях модуляции системы газотрансмиттеров (монооксид азота и сероводород) и при различных парциальных давлениях кислорода и углекислого газа. Рассматривается роль газотрансмиттеров в эффектах данного газа на кислородзависимые процессы крови. Установленные закономерности могут быть использованы в качестве фундаментальной основы для разработки новых способов повышения адаптационных ресурсов эритроцитарного звена.

УДК 612.223.12:612.127.2:612.111  
ББК 28.707.3

ISBN 978-985-36-0004-9

© Зинчук В. В., Билецкая Е. С., 2025  
© ГрГМУ, 2025

# ОГЛАВЛЕНИЕ

Перечень сокращений и обозначений.....	5
ВВЕДЕНИЕ.....	6
Глава 1	
ОЗОН КАК ПРЕДСТАВИТЕЛЬ МЕДИЦИНСКИХ ГАЗОВ .....	8
1.1 Характеристика физико-химических свойств молекулы озона.....	8
1.2 Общее представление о физиологических эффектах озона на организм .....	13
1.3 Влияние озона на систему крови.....	29
1.4 Система газотрансмиттеров монооксида азота и сероводорода.....	33
Глава 2	
ЭФФЕКТ ОЗОНА НА КИСЛОРОДЗАВИСИМЫЕ ПРОЦЕССЫ КРОВИ ПРИ РАЗНЫХ РЕЖИМАХ ВОЗДЕЙСТВИЯ .....	44
2.1 Изменение кислородсвязывающих свойств крови при действии озона.....	45
2.2 Характеристика прооксидантно-антиоксидантного баланса крови и содержания в ней газотрансмиттеров при инкубации с озонированным изотоническим раствором натрия хлорида .....	50
Глава 3	
КИСЛОРОДСВЯЗЫВАЮЩИЕ СВОЙСТВА КРОВИ И ЕЕ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНЫЙ БАЛАНС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ОЗОНОМ В УСЛОВИЯХ МОДУЛЯЦИИ СИНТЕЗА МОНООКСИДА АЗОТА И СЕРОВОДОРОДА .....	55
3.1 Действие озона на кислородсвязывающие свойства крови в условиях модификации NO-ергических процессов.....	57
3.2 Показатели прооксидантно-антиоксидантного баланса крови и содержания монооксида азота, сероводорода при инкубации с озонированным изотоническим раствором натрия хлорида в условиях модуляции синтеза монооксида азота.....	60
3.3 Изменение параметров транспорта кислорода кровью в условиях модуляции синтеза сероводорода .....	64

3.4 Эффект сероводорода на показатели прооксидантно-антиоксидантного баланса крови и газотрансмиттеров в условиях добавления озона.....	67	
3.5 Влияние озона на кислородсвязывающие свойства и параметры прооксидантно-антиоксидантного баланса эритроцитарной суспензии .....	70	
Глава 4		
<b>КИСЛОРОДСВЯЗЫВАЮЩИЕ СВОЙСТВА И ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНЫЙ БАЛАНС КРОВИ ПРИ ДЕЙСТВИИ ОЗОНА И РАЗНЫХ ПАРЦИАЛЬНЫХ ДАВЛЕНИЯХ КИСЛОРОДА И УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА .....</b>		<b>76</b>
4.1 Эффект озона на кислородсвязывающие свойства крови при разном парциальном давлении кислорода.....	78	
4.2 Влияние озона на показатели прооксидантно-антиоксидантного баланса крови и содержание монооксида азота, сероводорода при разном парциальном давлении кислорода .....	82	
4.3 Действие озона на кислородсвязывающие свойства крови при разном парциальном давлении углекислого газа.....	89	
4.4 Эффект озона на показатели активности свободнорадикальных процессов, антиоксидантного статуса и концентрацию монооксида азота, сероводорода при разном парциальном давлении углекислого газа.....	94	
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	102	
Список использованных источников .....	118	

## ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

АОС	– антиоксидантная система
АТФ	– аденозинтрифосфат
АФК	– активные формы кислорода
ДК	– диеновые конъюгаты
КДО	– кривая диссоциация оксигемоглобина
КТФ	– кислородтранспортная функция
МДА	– малоновый диальдегид
ПОЛ	– перекисное окисление липидов
СГК	– сродство гемоглобина к кислороду
2,3-ДФГ	– 2,3-дифосфоглицерат
ABE/SBE	– реальный/стандартный недостаток (избыток) буферных оснований
CBS	– цистатионин-β-синтаза
CO <sub>2</sub>	– углекислый газ
CSE	– цистатионин-γ-лиаза
CvO <sub>2</sub>	– содержание кислорода в крови
Hb	– гемоглобин
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	– гидробикарбонаты плазмы
H <sub>2</sub> S	– сероводород
L-NAME	– метиловый эфир N <sup>G</sup> -L-аргинина
Me	– медиана
NaHS	– натрия гидросульфид
NO	– монооксид азота
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	– нитрат/нитриты
NOC	– синтаза оксида азота
O <sub>2</sub>	– кислород
O <sub>3</sub>	– озон
PAG	– DL-пропаргилглицин
p50	– напряжение кислорода в крови при 50% насыщении гемоглобина кислородом
pH	– концентрация ионов водорода
pO <sub>2</sub>	– напряжение кислорода в крови
pCO <sub>2</sub>	– напряжение углекислого газа в крови
SBC	– стандартный бикарбонат
SO <sub>2</sub>	– степень оксигенации крови
TCO <sub>2</sub>	– общая углекислота плазмы крови

## ВВЕДЕНИЕ

Озон ( $O_3$ ) широко используется в клинической практике для лечения и реабилитации пациентов с разными заболеваниями [1, с. 1], в частности с коронавирусной инфекцией [2]. Кроме того, широко используется метод аутогемотерапии, который представляет собой забор образца крови у пациента из вены, выполнение её озонирования и далее обратное введение его в организм, с достижением терапевтического эффекта. Данный метод внесен в Мадридскую декларацию по озонотерапии. В настоящее время аутогемотерапию используют в качестве дополнительной терапии таких патологий, как диабетическая стопа, опоясывающий герпес и аутоиммунные заболевания, а также в качестве стратегии борьбы со старением. Тем не менее некоторые пациенты испытывают побочные эффекты после его применения. Этот метод достаточно эффективен, однако его применение осуществляется эмпирически, без серьёзного научного обоснования.

Данный газ оказывает множество положительных эффектов на органы и системы организма, обусловленных противовирусным, иммуномодулирующим, противовоспалительным действием, а также улучшением оксигенации тканей и стимуляцией метаболизма [3]. Применяются разнообразные методы введения  $O_3$  – подкожное, внутримышечное, внутрисуставное, внутривенное, аутогемотерапия [4]. Данный газ влияет на разные компоненты системы крови [5], тем не менее многие механизмы его действия остаются нераскрытыми.

Обсуждаются вопросы участия газотрансмиттера монооксида азота ( $NO$ ) в механизмах действия озона [6], применение которого способствует увеличению экспрессии эндотелиальной и индуцибельной изоформ  $NO$ -синтазы [7, с. 199–200]. Взаимодействие газотрансмиттеров может оказывать влияние на механизмы транспорта кислорода кровью, поскольку известно, что  $NO$  и сероводород ( $H_2S$ ) играют важную роль в адаптации организма к гипоксическим условиям [8, с. 4]. Уровень  $H_2S$  возрастает при низкой концентрации кислорода ( $O_2$ ) в крови [9, с. 11–12],

и, как и NO, данный фактор может влиять на проявление окислительного и нитроокислительного стресса, которые являются важнейшими элементами в интерактоме реактивных видов [10, с. 699]. Находясь в тесной интеграции, NO и H<sub>2</sub>S оказывают эффект на синтез друг друга, в частности, усиление синтеза сероводорода увеличивает активность NO-синтазы и, следовательно, продукцию NO [11, с. 2; 12, с. 910–911].

Внутриэритроцитарные факторы, модифицируя сродство гемоглобина к кислороду (СГК), участвуют в поддержании оптимальной оксигенации крови и тканей [13, с. 1–5; 14, с. 4]. Ведущую роль в регуляции кислородсвязывающих свойств крови осуществляют такие газы, как углекислый газ (СО<sub>2</sub>) и О<sub>2</sub> [15, с. 6].

Однако эффект О<sub>3</sub> на кислородсвязывающие свойства крови и её эритроцитарный компонент в условиях модуляции системы газотрансмиттеров (NO и H<sub>2</sub>S) и при разных парциальных давлениях О<sub>2</sub> и СО<sub>2</sub> изучен недостаточно, в связи с чем данный вопрос раскрывается в представленной монографии.

## Глава 1

# ОЗОН КАК ПРЕДСТАВИТЕЛЬ МЕДИЦИНСКИХ ГАЗОВ

### 1.1 Характеристика физико-химических свойств молекулы озона

Озон представляет собой аллотропную форму кислорода и образуется из атмосферного кислорода при прохождении молнии и наличии ультрафиолетовой (УФ) составляющей части солнечного излучения. Данный газ образуется при электрических разрядах у земной поверхности и окислении ряда органических веществ, поэтому в воздухе хвойных лесов (окисляется древесная смола) и на берегу моря (окисляются водоросли) регистрируется значительное его количество [1]. Среднее содержание  $O_3$  в воздухе у земной поверхности очень мало, что не может быть определено химическими методами и равно  $1 \times 10^{-6}$  объемных процентов, а общее его содержание в атмосфере соответствует слою газа приблизительно в 3 мм толщиной (при нормальном давлении). В свою очередь основная масса  $O_3$  сосредоточена в высоких слоях воздуха (10–30 км), где он образуется из кислорода под действием ультрафиолетовых лучей солнца с длиной волны до  $1850 \text{ \AA}$ , а более длинные волны (2000–3200  $\text{ \AA}$ ) с максимальным действием (при 2550  $\text{ \AA}$ ), наоборот, вызывают распад  $O_3$  [16]. Характерная особенность  $O_3$  – способность существовать в зависимости от условий во всех трех агрегатных состояниях [17].

История газовой терапии представлена в таблице 1.1 [18].

Озон состоит из трёх атомов кислорода, однако в молекуле  $O_3$  есть два неспаренных электрона, поэтому она неустойчива и является более сильным окислителем. Установлено, что в молекуле данного газа три атома кислорода образуют равнобедренный треугольник, молекула полярна, дипольный момент 0,5337Д (рисунок 1.1) [19].

Таблица 1.1 – История газовой терапии  
и молекулярные механизмы основных газов [18]

XVIII век	Открыт кислород и доказана его важная роль в обеспечении жизни
XIX век	Озон применяется для очистки воды
	Кислород используется для лечения пневмонии и других респираторных заболеваний
	Озоном лечат хронические язвы и инфекционные заболевания
	Начинают применять гелий для терапии респираторных инфекций
XX век	Ксенон используют для медицинских и промышленных приложений визуализации. Открыто его нейропротекторное действие
	Обнаружено, что монооксид азота оказывает сосудорасширяющее действие
	Доказаны иммуномодулирующие и противовоспалительные эффекты угарного газа
	Открыты противовоспалительные и антиоксидантные эффекты сероводорода
	Доказаны противовоспалительные и антиоксидантные эффекты сернистого газа
XXI век	Применение водорода в медицине для стимуляции антиоксидантной системы

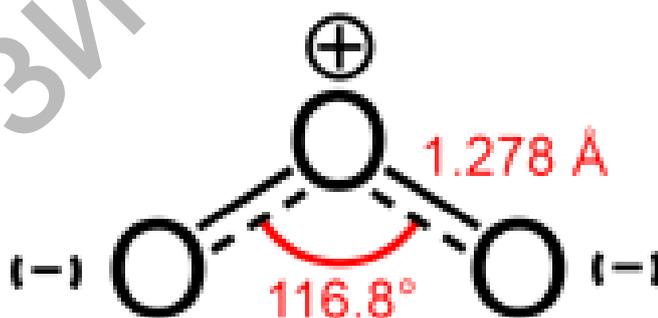


Рисунок 1.1 – Строение молекулы озона [19]

Озон чаще всего получают в озонаторах, в которых поток кислорода подвергается действию электрического разряда (электрического разряда без искр) (рисунок 1.2) [20].

Процесс протекает по уравнению  $3\text{O}_2 \leftrightarrow 2\text{O}_3 - 292,3 \text{ Кдж}$ .

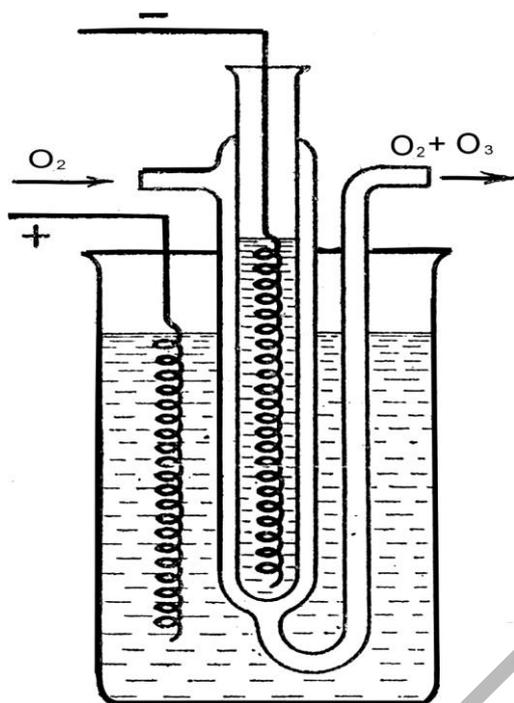


Рисунок 1.2 – Озонатор (устройство для генерации  $O_3$ ) [20]

За счёт поглощения кванта энергии происходит расщепление молекулы кислорода на атомы, которые, соударяясь с молекулами кислорода, в присутствии какой-либо частицы, принимающей на себя избыточную энергию соударения, образуют молекулы  $O_3$ .

Данный процесс идет в две стадии:

- 1)  $O_2 \rightarrow O + O$ ;
- 2)  $O + O_2 + (M) \rightarrow O_3 + (M)$ .

Характеристика основных физико-химических свойств  $O_3$  представлена в таблице 1.2.

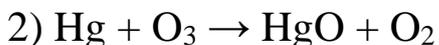
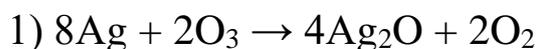
Таблица 1.2 – Основные физико-химические свойства озона [21]

Параметр	Значение
Молекулярная масса	47,9982 г/моль
Температура плавления (1 атм.)	80,6±0,4 К
Температура кипения (1 атм.)	161,3±0,3 К
Критическая температура	261,1 К
Критическое давление	54,6 атм.
Критическая плотность	0,437 г/см <sup>3</sup>
Критический объем	от 88,9 до 147 см <sup>3</sup> /моль
Плотность газа (при t=273,15 К)	2,144 г/л
Плотность жидкости (при t=85,2 К)	1,59±0,07 г/см <sup>3</sup>

Продолжение таблицы 1.2

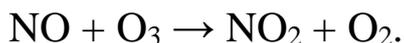
Параметр	Значение
Плотность твердого озона (при $t=77,4$ К)	$1,73 \pm 0,02$ г/см <sup>3</sup>
Поверхностное напряжение при $t=77,4$ К при $t=90,2$ К	43,8 дин/см 38,4 дин/см
Вязкость жидкости при $t=77,4$ К при $t=90,2$ К	4,17 сПз $1,56 \pm 0,02$ сПз
Теплота выпаривания при $t=161,2$ К при $t=161,2$ К при $t=161,3$ К при $t=90,2$ К при $t=85,95$ К	15,19 кДж/моль 14,27 кДж/моль 11,17 кДж/моль 15,27 кДж/моль 16,6 кДж/моль
Теплота плавления	2,1 кДж/моль
Теплота растворения в воде при $t=291,15$ К при $t=291,15$ К при $t=273,15$ К	14,2 кДж/моль 16,3 кДж/моль 24,7 кДж/моль
Константы уравнения Ван-дер-Ваальса	$a=3,535$ атм. л <sup>2</sup> /моль $b=0,04903$ л/моль
Коэффициент диффузии ( $P=1$ атм., $T=300$ К)	$0,157$ см <sup>2</sup> /с
Дипольный момент	0,55 Дб
Диэлектрическая постоянная: газ жидкость	1,0019 4,79
Коэффициент теплового расширения 90,1 К 161 К	$2,0 \cdot 10^{-3}$ К <sup>-1</sup> $2,5 \cdot 10^{-3}$ К <sup>-1</sup>
Показатель преломления: газ 480 нм 546 нм 671 нм вещество 535 нм 589 нм 670,5 нм	1,0533 1,0520 1,0502 1,2236 1,2226 1,2213
Потенциал ионизации	12,8–13,5 эВ 12,52 эВ

Озон – эндотермичное и реакционноспособное соединение, обладающее высокой окислительной активностью;  $O_3$  окисляет почти все металлы, за исключением золота, платины и иридия, до их высших степеней окисления:



Окисляет и многие неметаллы:

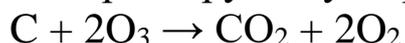
3) озон повышает степень окисления оксидов



4) двуокись азота может быть окислена до трехокси азота:



5) озон реагирует с углеродом, образуя двуокись углерода:



6) озон не реагирует с аммонийными соединениями, но реагирует с аммиаком:



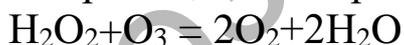
7) озон реагирует с сульфидами с образованием сульфатов:



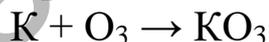
8) с помощью озона можно получить серную кислоту как из элементарной серы, так и из двуокиси серы:



9) с пероксидом водорода озон ведет себя как восстановитель:



10) с гидроксидами щелочных металлов озон образует так называемые озониды, состоящие из положительно заряженных ионов и отрицательно заряженных ионов  $O_3$  [22]:



Монооксид азота (NO) реагирует с озоном, образуя диоксид азота и кислород:  $NO + O_3 \rightarrow NO_2 + O_2$ . Диоксид азота может реагировать со свободными радикалами:  $NO_2 + \cdot O \cdot \rightarrow NO + O_2$ , что приводит к превращению части озона в кислород:  $O \cdot + O_3 \rightarrow 2O_2$ . Таким образом, оксиды азота действуют как катализаторы разложения  $O_3$ .

Свободный радикал – атом хлора – может взаимодействовать с озоном, а продукт (ClO) – с атомарным кислородом:

$Cl + O_3 \rightarrow ClO + O_2$ ;  $ClO + O \rightarrow Cl + O_2$ , в результате чего содержание озона уменьшается:  $O \cdot + O_3 \rightarrow 2O_2$ .

Таким образом, представленные данные о физико-химической природе озон свидетельствуют о его высокой реакционной способности, что может иметь значение для обеспечения и регуляции многих физиологических процессов, протекающих в организме, о чём изложено ниже.

## 1.2 Общее представление о физиологических эффектах озона на организм

Озон состоит из трех атомов кислорода и представляет собой его аллотропную модификацию, однако в молекуле  $O_3$  имеется два неспаренных электрона, поэтому она неустойчива и проявляет более выраженные окислительные свойства [1, с. 19]. У данного газа короткий период полураспада, в силу чего введение его должно осуществляется непосредственно после синтеза [24]. Для получения  $O_3$  используется специальное оборудование – озонотерапевтические установки, которые превращают  $O_2$  в  $O_3$ . В физиологическом растворе после барботажа данным газом не образуются примеси. Кроме того, данный метод позволяет снизить лекарственную нагрузку на пациента, что также влечёт и оптимизацию затрат на лечение [1, с. 58]. Однако избыток  $O_2$  в озono-кислородной смеси может привести к образованию токсичного диоксида азота, поэтому озонотерапевтическая установка должна быть снабжена спектрофотометром для точного расчёта концентрации  $O_3$  [25, с. 2]. В наших исследованиях была использована соответствующая данному требованию установка УОТА-60-01-Медозон (Россия).

Голландский физик Мартин ван Марум в 1785 году открыл озон, свойства газа детально были описаны профессором Шонбейтом в книге «Получение озона химическими способами» (1832) [26]. Немецкий врач А. Wolf в 1915 году во время Первой мировой войны применял  $O_3$  для лечения гнойных ран, свищей, ожогов – отмечалось улучшение клинического течения заболеваний,

ранозаживляющее и выраженное дезинфицирующее действие  $O_3$  [27, с. 7]. Данные эффекты, как было установлено позднее, реализовывались благодаря воздействию на фосфолипазы A2 и C, что способствовало росту провоспалительных цитокинов – интерлейкинов, фактора некроза опухоли- $\alpha$ , трансформирующего фактора роста  $\beta$ , циклооксигеназы [28, с. 3]. В терапевтических дозах озон не повреждает ткани пациента, так как организм человека обладает мощной антиоксидантной системой (АОС) защиты в противоположность микроорганизмам [29].

Физиологическое действие озона представлено на рисунке 1.3 [30].



**Рисунок 1.3 – Физиологическое действие озона [30]**

Несмотря на ряд преимуществ, токсичность и клиническая эффективность  $O_3$  зависят от концентрации и способа введения. Один из спорных методов его применения – ингаляционный. Данный газ значительно увеличивает сопротивление дыхательных путей без изменения эластичности [31] и оказывает токсическое действие при вдыхании, так как у человека значительная площадь

поверхности альвеол защищена сурфактантом, содержащим недостаточное количество антиоксидантов, чтобы подавить сильную окислительную активность. Плазма и клетки крови обладают мощной АОС, поэтому при использовании терапевтических доз озона такой способ введения более безопасен [32]. Данный газ достаточно быстро растворяется в крови, что позволяет значительно снизить риски эмболии вследствие попадания его в венозную систему. Тем не менее необходимо с осторожностью применять метод прямого внутривенного введения, так как возможно осложнение в виде склерозирования вен [33, с. 166].

Озон также может синтезироваться в организме человека во время окислительного взрыва (путём окисления воды) полиморфноядерных нейтрофилов [34]. Первоначально он использовался только для дезинфекции [35]. Со временем стал применяться для лечения многих заболеваний в качестве вспомогательного физиотерапевтического средства [36]. Благодаря своему окислительному потенциалу  $O_3$  обладает высоким сродством к двойным углеродным связям и может взаимодействовать со многими органическими и неорганическими соединениями [37, с. 302]. Озон – самый сильный окислитель после фтора и персульфата, хотя и не относится к радикалам. Являясь нестабильной молекулой ввиду слабых связей, удерживающих третий атом  $O_2$ , может увеличивать выраженность окислительного стресса [1].

Аутогематотерапия – один из основных методов озонотерапии. Однако экстракорпоральная оксигенация позволяет проозонировать больший объем крови, чем при аутогемотерапии. Другие методы включают прямую инъекцию через внутривенный, внутримышечный, внутридисковый и паравerteбральный пути введения (рисунок 1.4). Ректальная, носовая, трубная, ротовая, вагинальная, пузырьная, плевральная и брюшная инсуффляции также востребованы в современной медицине. В частности, воздействие на кожу осуществляется путём погружения части тела в ёмкость с озono-кислородной смесью. Озонированный изотонический раствор 0,9% NaCl используется для предотвращения риска эмболии при внутривенном введении [27, с. 44, с. 76]. Используемые дозы также имеют огромное значение для достижения терапевтического эффекта.

Так, для аутогемотерапии диапазон составляет от 10 до 80 мкг/мл, что способствует активации АОС и инициирует цитокиновый каскад [38, с. 2376].

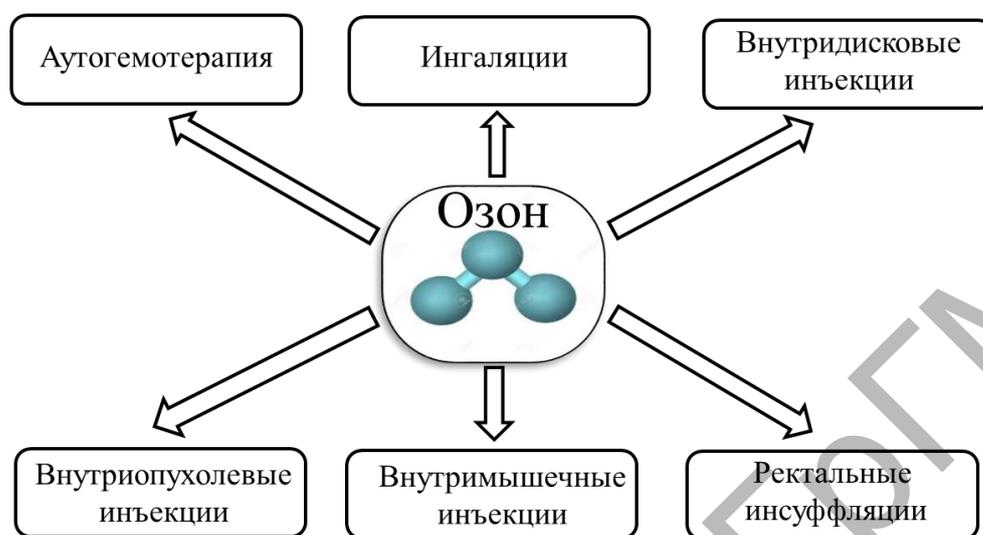


Рисунок 1.4 – Методы введения озона [39]

Свойства озона объясняются его молекулярной структурой, за счёт которой он вступает в реакцию с органическими соединениями, содержащими двойные связи (например, полиненасыщенные жирные кислоты), и присоединяет три атома кислорода к ненасыщенной связи, образуя озониды (рисунок 1.5).

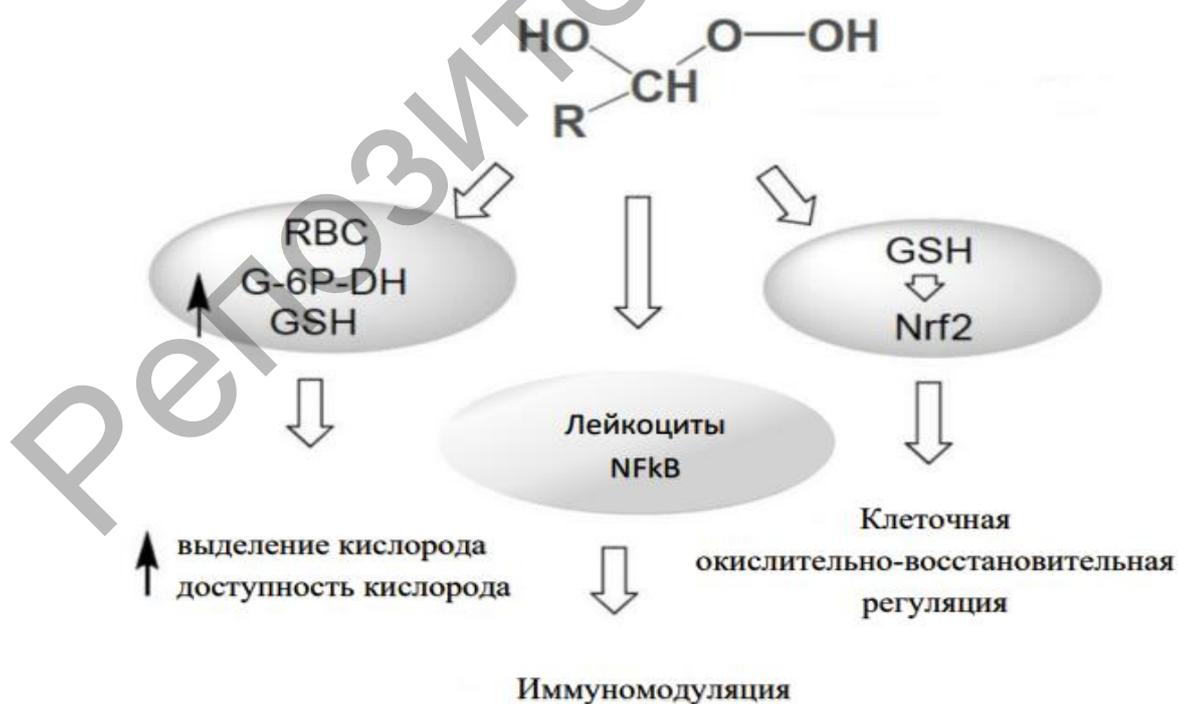


Рисунок 1.5 – Механизмы действия озона [40, с. 7]

В крови данные соединения трансформируются в стабильные гидропероксиды, обладающие способностью выделять кислород при повышении рН, что наблюдается при дегенеративных процессах и/или ишемических состояниях [41, с. 9]. Пероксид водорода ( $H_2O_2$ ) действует как переносчик озона и является активной формой кислорода (АФК). Следует отметить, что  $O_3$  разрушается через несколько секунд после введения и действует как регулятор, не подвергаясь абсорбции, распределению и выведению.  $H_2O_2$  метаболизируется в плазме крови в течение двух минут. 4-гидроксинафеналь является более стабильным соединением и стимулирует возникновение окислительного стресса [42]. Введение озонированного физиологического раствора с концентрацией озона 3000 мкг/л пациентам с ожогами третьей степени тяжести вызывает умеренную активацию процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) с выраженным ответом АОС защиты, в то время как концентрация 5000 мкг/л значительно снижает данные показатели в плазме крови [43, с. 21]. Представленные данные о физико-химической природе  $O_3$  свидетельствуют о его высокой реакционной способности, что может иметь значение для обеспечения и регуляции многих физиологических процессов, протекающих в организме.

Озон имеет ряд важных особенностей: ведёт себя как физиологически совместимое с организмом вещество; его лечебные дозы не оказывают отрицательного влияния на организм (при исключении попадания  $O_3$  в дыхательные пути в концентрациях, превышающих предельно допустимые); исключает развитие резистентности патогенной микрофлоры; воздействует на биообъект независимо от исходного этиологического фактора, вызвавшего заболевание; усиливает утилизацию кислорода тканями, стабилизирует клеточные мембраны, повышает защитные силы организма в борьбе с инфекцией; является сильным иммуномодулятором, индуктором цитокинов, интерферона, а также факторов некроза опухоли; положительно воздействует на центральную нервную, эндокринную, дыхательную, кроветворную, иммунную, выделительную и репродуктивную системы [44].

На рисунке 1.6 представлены некоторые эффекты озона.

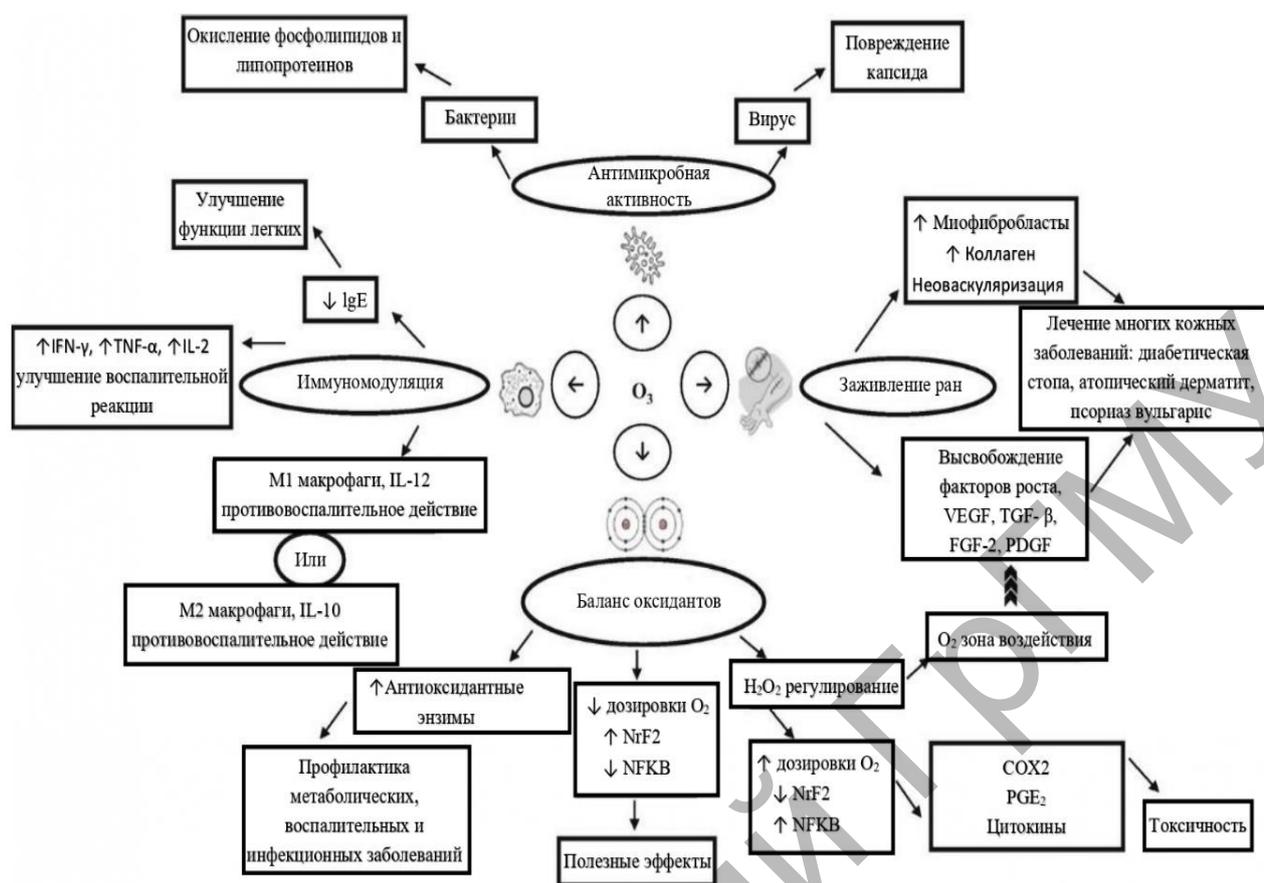


Рисунок 1.6 – Эффекты озонотерапии [45, с. 157]

Данные эффекты частично объясняются следующими механизмами: противовоспалительное действие обусловлено разрушением и блокированием простагландинов и интерлейкинов; улучшение оксигенации тканей осуществляется за счёт донорства  $O_2$  [46]. При умеренных окислительных стрессах  $O_3$  может индуцировать активацию редокс-чувствительного транскрипционного фактора Nrf2, способствуя синтезу антиоксидантов [47, с. 212]. Суть данного механизма состоит в следующем: терапевтические дозы  $O_3$  снижают уровень воспалительных цитокинов, блокируя действие ядерного фактора «каппа-би» и стимулируя экспрессию транскрипционного фактора Nrf2. Активация эритроидного фактора 2 в конечном итоге приводит к стимуляции АОС [48]. Озон вызывает окисление фосфолипидов и липопротеинов клеточных стенок бактерий, повреждая их; инактивирует вирусы путём повреждения их капсида, нарушая вирусный репродуктивный цикл, что вызывает необратимое повреждение вирусной дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) [49].

Данный газ улучшает кровообращение и доставку кислорода в ишемизированные ткани, уменьшает повреждение митохондрий при синдроме ишемии-реперфузии сердечной мышцы [48], увеличивает уровень 2,3-дифосфолицерата (2,3-ДФГ) [50] (рисунок 1.7).

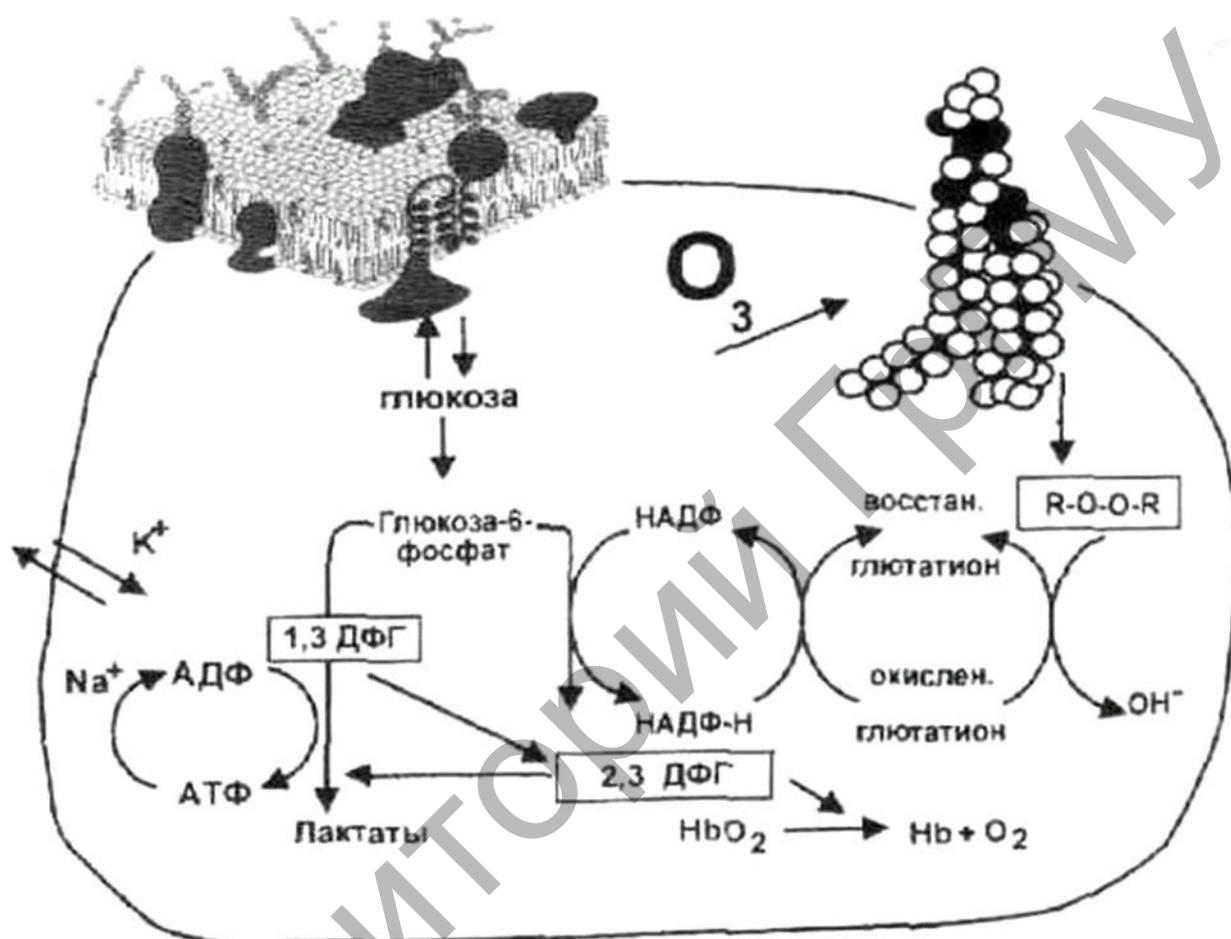


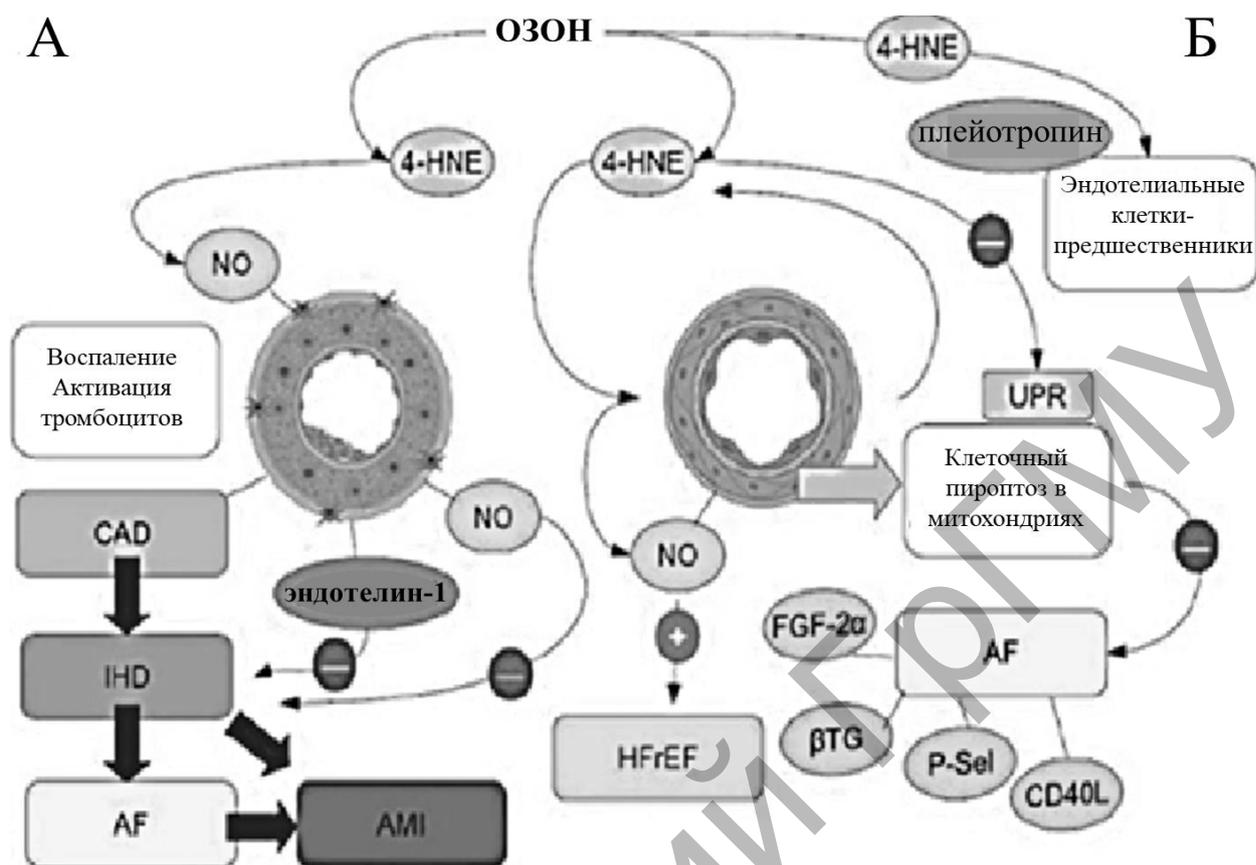
Рисунок 1.7 – Влияние озона на кислородзависимые процессы эритроцита [20]

Озонотерапия обеспечивает кислородом ишемизированные ткани, что подтверждено анализом газового состава крови: напряжение кислорода ( $pO_2$ ) в венозной крови после курса озонотерапии снижается с 40 до 20 мм рт. ст., усиливается метаболизм в тканях, что нивелирует отрицательные эффекты гипоксемии, при которой в избытке образуются ионы  $OH^-$  [51, с. 102]. Включение озона в комплексную терапию железодефицитной анемии у беременных женщин позволяет достоверно снизить частоту патологии новорождённых на 7,6% за счёт уменьшения частоты гипоксии в 2 раза, асфиксии

при рождении и внутриутробной инфекции – в 1,5 раза благодаря восстановлению гемоглобина, улучшению тканевого дыхания и маточно-плацентарного кровообращения [1, с. 66]. Показано, что O<sub>3</sub> превосходит гипербарическую оксигенацию в эффекте улучшения реологических свойств крови, снижая такой важный фактор кровотока, как вязкость [52].

Следует отметить позитивное воздействие этого газа на микроциркуляцию за счёт активации синтеза NO, являющегося мощным вазодилататором. NO играет роль важного меж- и внутриклеточного молекулярного мессенджера. Он непрерывно продуцируется в организме ферментативными и не ферментативными путями, оказывает ключевое воздействие на целый ряд принципиально разных физиологических и патологических процессов. NO определяет тонус сосудов, ингибирует агрегацию и адгезию тромбоцитов, является нейротрансмиттером, регулирует деятельность желудочно-кишечного тракта, мочеполовой системы и органов дыхания [53, с. 6]. На фоне озонотерапии снижается тонус артериол, повышается пульсовое кровенаполнение органов и облегчается венозный отток [54, с. 193]. Основным промежуточным продуктом озона является 4-HNE, который может гормонально воздействовать на нарушенные артериальные функции из-за обструкции, опосредованной бляшками (А), или другие этиопатогенетические механизмы, включающих микроциркуляцию и артериальный эндотелий (Б) (рисунок 1.8) [55].

Аутогемотерапия O<sub>3</sub> улучшает состояние пациентов с инфекцией COVID-19 за счёт роста параметров кислородтранспортной функции (КТФ) крови, увеличивает уровни аденозинтрифосфата (АТФ) и 2,3-ДФГ, уменьшает клинические проявления острого респираторного дистресс-синдрома, снижает маркеры воспаления и уровень D-димера [33, с. 168]. Тесты, проведённые с использованием спектроскопии, свидетельствуют об усилении оксигенации после курса озонотерапии у пациентов с дыхательной недостаточностью, проявляющейся увеличением оксигенированного гемоглобина и постоянными значениями дезоксигемоглобина, отмечается уменьшение одышки, улучшаются показатели сатурации кислородом [56].

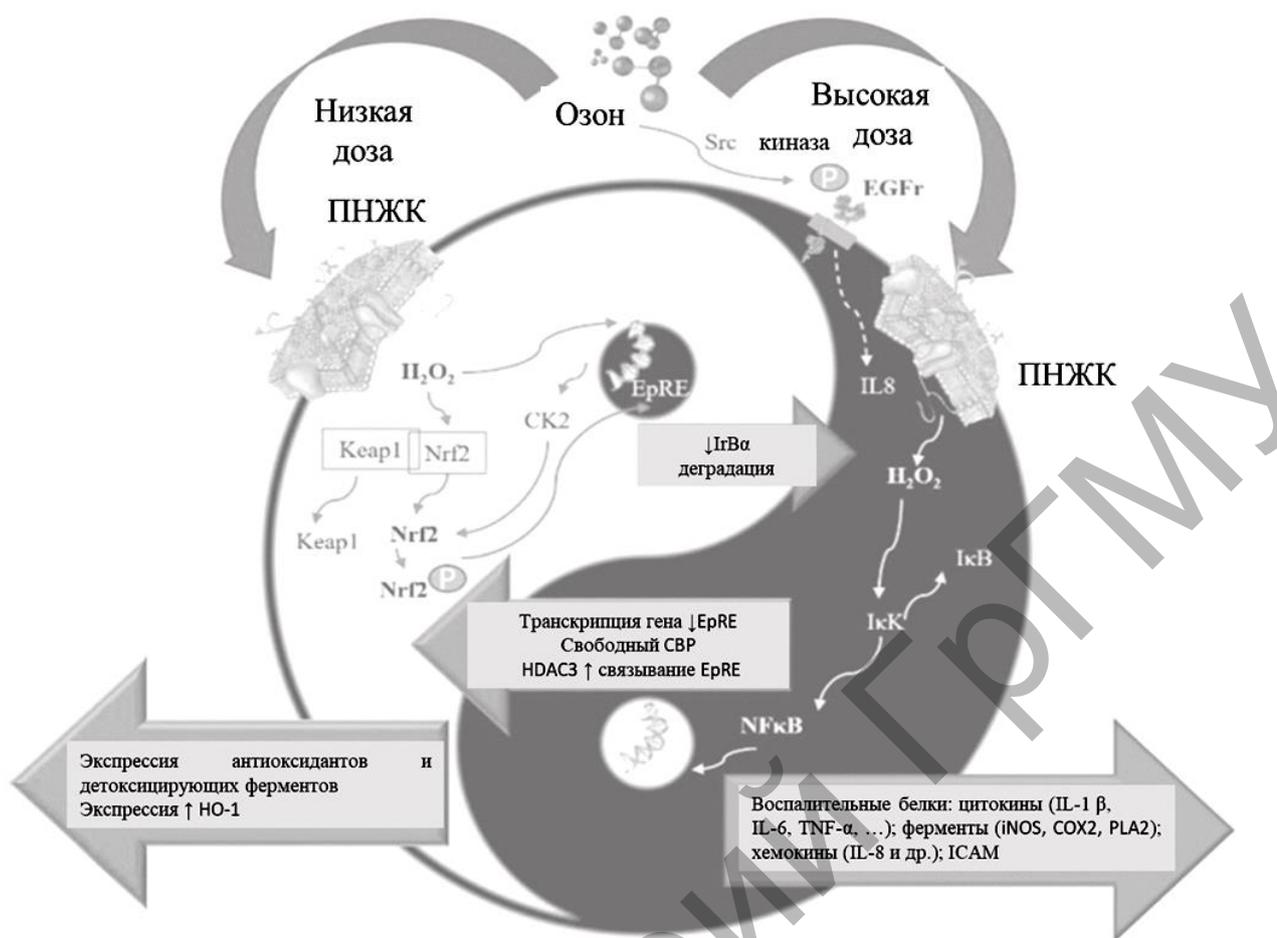


**Рисунок 1.8 – Основные функциональные пути, связанные с эффектами озонотерапии на сердечно-сосудистые заболевания [55]**

Примечание – 4-HNE: 4-гидроксиноненал; AF: фибрилляция предсердий; AMI: острый инфаркт миокарда; CAD: болезнь коронарных артерий; CVD: сердечно-сосудистые заболевания; EPC: эндотелиальная клетка-предшественник; FGF-2α: фактор роста фибробластов-2α; HFrEF: сердечная недостаточность со сниженной фракцией выброса; IHD: ишемическая болезнь сердца; P-Sel: P-селектин; UPR: развернутый белковый ответ; βTG: β-тромбоглобулин.

Кроме выраженного противогипоксического эффекта, озон обладает положительным действием на метаболизм эритроцитов, повышает резистентность их мембран [25, с. 66]. Также  $O_3$  проявляет антибактериальные свойства за счёт воздействия на мембраны возбудителей: снижает гидрофобность их наружной мембраны и через аденилатциклазные механизмы активирует основные внутриклеточные ферментативные системы [57].

Эффекты медиаторов озона на пути Nrf2 и NfκB представлены на рисунке 1.9 [58].



**Рисунок 1.9 – Гипотетические эффекты медиаторов озона на пути Nrf2 и NFκB [58]**

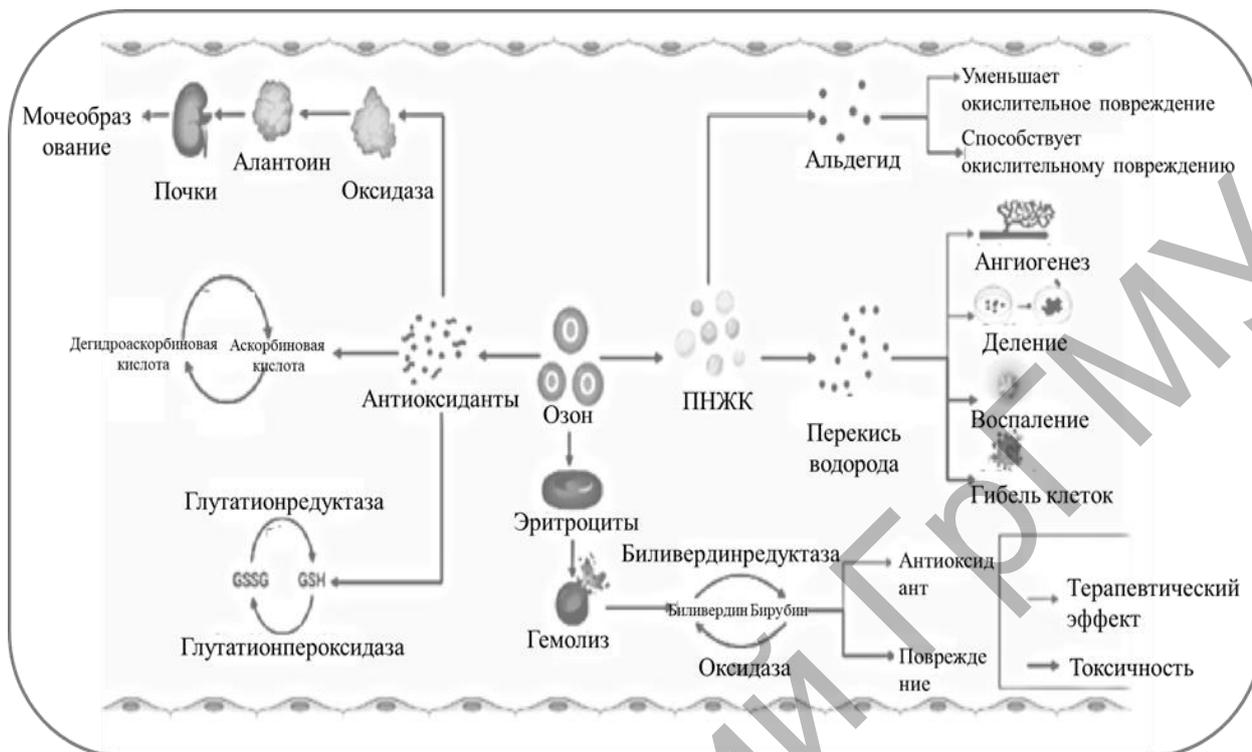
Примечание – СК2: кazeинкиназа 2; СВР: CREB-связывающий белок; СОХ-2циклооксигеназа-2; EpRE: электрофильно-зависимые элементы; EGFr: рецептор эпидермального фактора роста; HO-1: гемоксигеназа-1; HDAC3: гистондеацетилаза 3; IL-1 β: интерлейкин-1β; IL-6: интерлейкин-6; IL-8: интерлейкин-8; ICAM: молекула внутриклеточной адгезии; IKK: киназа IκB; Keap1: келх-подобный ECH-ассоциированный белок 1; Nrf2: фактор 2, родственник ядерному эритроиду 2; PLA2: фосфолипаза A2; TNF-α: фактор некроза опухоли-α.

Озон в зависимости от дозы и способов введения способен оказывать положительное влияние на окислительно-восстановительный баланс и вызывать компенсаторную мобилизацию эндогенных антиоксидантов из депо, активизировать ферментативное звено антирадикальной защиты, что направлено на стабилизацию динамического равновесия между свободнорадикальным окислением липидов и антиокислительными процессами организма [59]. Так, при проведении озонотерапии

у пациентов с рассеянным склерозом (20 мкг/мл, 3 раза в неделю) наблюдалось снижение уровня продуктов ПОЛ и рост антиоксидантов [48]. При неправильно подобранном методе озонотерапии или при использовании больших концентраций данный газ может нанести серьёзный вред организму за счёт окисления белков, тиолов и аминов [25, с. 2]. Воздействие  $O_3$  на прооксидантно-антиоксидантный баланс связано с множественными окислительными и восстановительными биохимическими реакциями, происходящими в клетках: передача сигналов «индуцибельной изоформе» гемоксигеназы и увеличение синтеза NO; активация классического сигнального пути ответа на гипоксию, опосредованного гипоксическим индуцибельным фактором (HIF-1) [60]. Исследования последних лет демонстрируют, что  $H_2S$  подобно NO играет важную роль в регуляции функций HIF-1 при гипоксии и вовлечён в ангиогенез, а также за счёт активации каротидных телец быстро восстанавливает общее снабжение кислородом [61, с. 9].

Сдвиг окислительно-восстановительного равновесия организма, происходящий в результате действия  $O_3$ , приводит к накоплению окисленного глутатиона и, следовательно, к активации глюкозофосфатного шунта: повышение уровня глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, накопление восстановленного никотинамидадениндинуклеотидфосфата (НАДФН), что улучшает работу глутатионовой системы и способствует окислению цитохрома C [62]. Применение озонотерапии в ранний послеоперационный период (7 сутки) после лазерного удаления полипов приводит к снижению первичных и вторичных продуктов ПОЛ, ранних и поздних маркёров окислительной модификации белков до показателей здоровых лиц [63, с. 110]. Терапевтический эффект озона в низкой дозировке в основном обусловлен небольшим количеством альдегидов и перекиси водорода, вырабатываемых полиненасыщенными жирными кислотами. Билирубин, вырабатываемый при гемолизе, также обладает антиоксидантным действием. Токсичность озона в высокой дозировке обусловлена интенсивными гемолитическими реакциями и выработкой большого количества альдегидов и перекиси водорода.

Метаболизм озона и его эффекты на организм человека представлены на рисунке 1.10.



**Рисунок 1.10 – Метаболизм и действие озона на человека [39]**

Озонотерапия способствует нормализации метаболических процессов у большинства пациентов. Она влияет на липидный и углеводный обмен [54]. Озон снижает коэффициент атерогенности, а также концентрации общего холестерина, триглицеридов, липопротеинов низкой плотности, липопротеинов очень низкой плотности [64]. Подобным образом изменяется и содержание триглицеридов. Озон обладает способностью оказывать умеренный гипокоагуляционный эффект. Влияние озонотерапии на метаболические процессы, показатели гемостаза при заболеваниях дыхательной системы является важным фактором в реабилитационном периоде пациентов указанного профиля [54].

При аутогемотерапии в эритроцитах возрастает активность фосфофруктокиназы, что способствует увеличению скорости гликолиза [27, с. 37]. Коррекция O<sub>3</sub> хронического окислительного стресса посредством увеличения антиоксидантных ферментов приводит к росту дифференцировки эритробластов. Кроме того, O<sub>3</sub> способствует увеличению уровня простациклина – известного

сосудорасширяющего средства [31]. Данный газ нейтрализует свободные радикалы, токсины и канцерогены, что приводит к уменьшению окислительного стресса, вызванного повышенным содержанием ферритина; таким образом, реализуется защита клеток от апоптоза [24]. В результате консервативного лечения пациентов с острым панкреатитом при комплексировании традиционной терапии и общей озонотерапии (концентрация  $O_3$  3–4 мкг/мл в 400 мл физиологического раствора 2 раза в сутки внутривенно капельно) количество осложнений уменьшается на 5% по сравнению с контролем [65, с. 65].

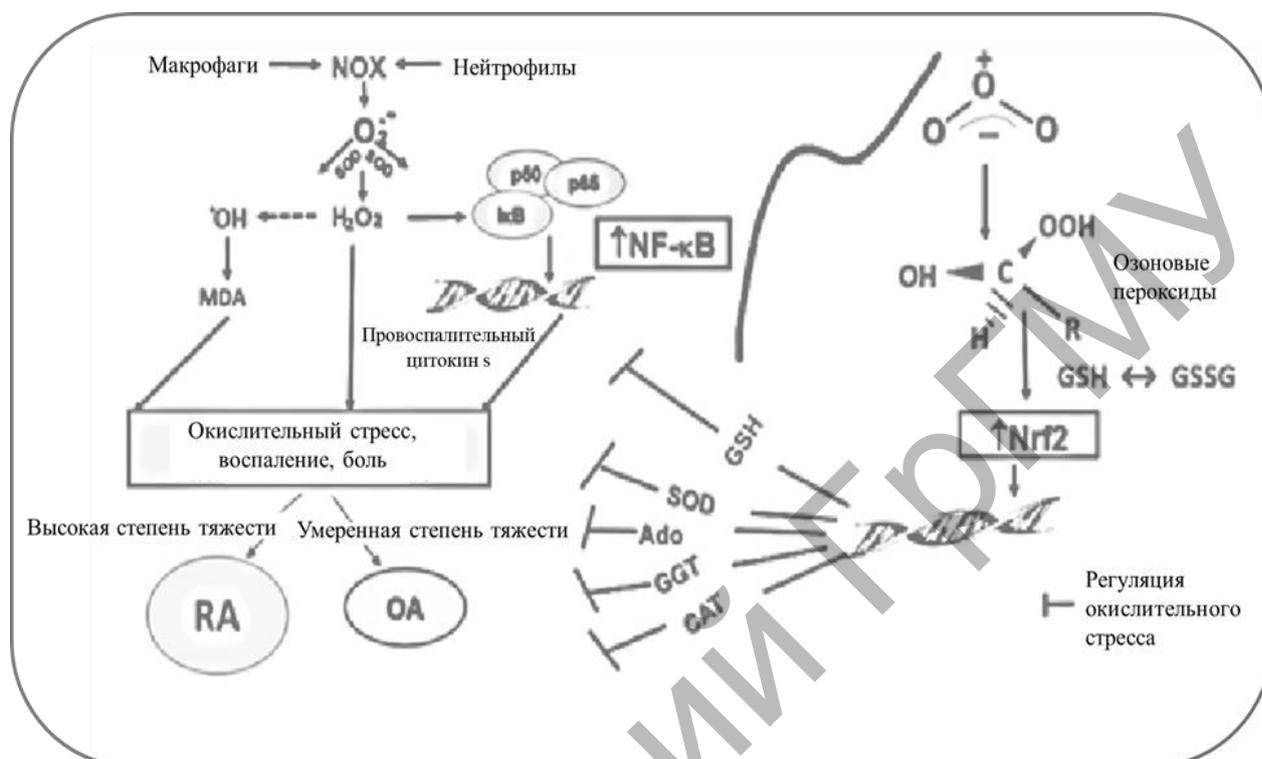
Комбинация ректальных озоновых инфузий и озонотерапии аутогемотерапии у пациентов с COVID-19 лёгкой и средней степени тяжести увеличивает показатели КТФ крови ( $pO_2$ , степень оксигенации ( $SO_2$ )) в сравнении с контрольной группой [33, с. 167]. Озонотерапия улучшает насыщение тканей кислородом, при этом почти не вызывает побочных реакций, которые часто возникают при назначении лекарственных препаратов [1, с. 65]. В другом исследовании у 95% пациентов с COVID-инфекцией, которым проводилась озонотерапия после 2–3 процедур отмечалось значимое улучшение общего состояния, «облегчение дыхания», прилив сил, рост показателей сатурации кислородом, снижение коагуляционного потенциала крови [25, с. 69]. Данный газ не только увеличивает оксигенацию, но и уменьшает выраженность воспалительных процессов (снижение количества лейкоцитов и лимфоцитов, прокальцитонина, С-реактивного белка, интерлейкина-6), при рентгенологическом исследовании отмечаются менее выраженные отёк лёгких и альвеолярная инфильтрация. Тем не менее при назначении данного метода следует внимательно подходить к выбору способа введения, дозы, графика лечения и учитывать стадию заболевания [33, с. 166].

Известно, что в результате применения лечебных доз  $O_3$  возникают разные эффекты в клетках, биологических тканях, которые проявляются увеличением биосинтеза нуклеиновых кислот, активацией функции ядерного аппарата митохондрий, рибосом, системы «ДНК–РНК–белок», что стимулирует окислительно-восстановительные процессы, увеличение поглощения тканями кислорода [66, с. 23].

Проведение внутривенных инфузий озонированного физиологического раствора (концентрация 2,2–2,4 мг/л, 6 процедур через день) пациентам с диагнозом миастения характеризовалось снижением активности свободнорадикальных процессов, проявляющихся однонаправленной тенденцией к уменьшению продуктов ПОЛ [67]. Вследствие взаимодействия озона и образовавшихся озонидов (соединений активного кислорода с липид-белковыми компонентами) с биоорганическими субстратами крови образуется большое количество биологически активных веществ – мощных терапевтических модуляторов, способствующих реактивации окислительного потенциала организма [25, с. 52]. Например, в качестве неклассического вторичного мессенджера может выступать 4-гидроксиноненаль [63, с. 110]. У гидроксигидропероксидов длительный период полураспада, что позволяет им взаимодействовать с клетками посредством кровеносной системы, вызывая тем самым отсроченные эффекты озонотерапии [28, с. 2]. Цитопротективное действие данного газа и его дериватов объясняется способностью озонидов и к стимуляции роста митохондриальных копий в клетках с целью выработки большего объёма АТФ [63, с. 110].

Умеренный окислительный стресс, вызванный  $O_3$ , активизирует транскрипцию элементов АОС, повышая уровень антиоксидантных ферментов [68] (рисунок 1.11). После проведения курса озонотерапии беременным у новорождённых клинической группы активность супероксиддисмутазы эритроцитов достоверно снижается на 14,47% ( $p < 0,05$ ) относительно группы сравнения, а активность каталазы, напротив, увеличивается на 21,66% ( $p < 0,05$ ) [69]. Такая направленность обменных процессов со стороны ферментов первой линии антиоксидантной защиты свидетельствует о благоприятном действии данного способа коррекции. Длительное использование  $O_3$  в высоких дозах (2,0 и 8,0 мкг) оказывает ингибирующее влияние на активность процессов ПОЛ и общий антиоксидантный статус крови, повышая активность супероксиддисмутазы, в то время как продолжительное воздействие  $O_3$  в дозе 0,6 мкг оказывает менее выраженный токсический эффект [70, с. 31].

Роль медицинского озона в регуляции антиоксидантно/прооксидантного баланса при артритных заболеваниях представлена на рисунке 1.11 [71].



**Рисунок 1.11 – Роль медицинского озона в антиоксидантно/прооксидантном балансе при артритных заболеваниях [71]**

Примечание – RA: ревматоидный артрит; OA: остеоартрит; Nox: НАДФ оксидаза; GSH: восстановленный глутатион; SOD: активность супероксиддисмутазы; Ado: аденозин; GGT:  $\gamma$ -глутамилтрансфераза; CAT: активность каталазы.

В экспериментах на животных отмечают положительные результаты при применении озонотерапии с целью уменьшения окислительного стресса, вызванного возрастными изменениями. Доказано, что введение низких доз  $O_3$  оказывает позитивный эффект на возрастные изменения в сердце и гиппокампе крыс, что подтверждается снижением маркёров окисления липидов и белков, уменьшением осаждения липофусцина, восстановлением уровней глутатиона и нормализацией активности глутатионпероксидазы в ткани сердца, ростом цитозольного кальция и восстановлением активности  $K^+/Na^+$ -АТФазы в сердце и гиппокампе [72, с. 518]. При проведении озонотерапии также

отмечается увеличение концентрации витамина E, который инактивирует супероксидный радикал, угнетает липидные радикалы, защищает от токсического действия озона и обладает способностью повышать уровень липидных антиоксидантов [73, с. 287].

Действие  $O_3$  понижает рецепторную чувствительность тканей, что способствует уменьшению интерстициального отёка и напряжения, и проявляется обезболивающим эффектом [74]. Установлено, что применение озонотерапии (концентрация  $O_3$  1,2–1,5 мг/мл) в комплексе послеоперационного лечения пациентов с нейроэндокринными опухолями позволяет значительно повысить противоотёчный эффект независимо от морфологического строения новообразований головного мозга, а также снизить уровень эндогенной интоксикации, улучшить доставку кислорода к тканям и утилизацию его, активизировать процесс аэробного окисления [75, с. 30]. При проведении комплексной терапии пациентам с острым пиелонефритом, включающей, помимо антибактериального и противовоспалительного лечения, озонотерапию (концентрация  $O_3$  3–4 мкг/мл), отмечалось достоверное снижение показателей эндотоксикоза, значительно улучшались клинические и биохимические показатели [76].

Терапия, проведённая пациентам старшей возрастной группы со стабильной стенокардией напряжения I–II функционального класса в виде внутривенного капельного введения озонированного физиологического раствора с концентрацией  $O_3$  2–4 мг/л (3 раза в неделю на фоне приёма нитратов, или бета-блокаторов, или ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента), обеспечивает стабильный и равномерный антигипертензивный эффект, снижая среднесуточный уровень систолического, диастолического артериального давления и частоту сердечных сокращений [77].

Таким образом, представленные данные свидетельствуют о разнообразных эффектах  $O_3$  на протекание физиологических процессов, однако особый интерес представляет его действие на систему крови.

### 1.3 Влияние озона на систему крови

Озон непосредственно воздействует на клеточные мембраны форменных элементов крови (лимфоцитов, эритроцитов, тромбоцитов), клетки сосудистой стенки и плазменные метаболиты [77]. Данный газ играет роль клеточного адаптера гипоксии, поскольку хорошо известно его влияние на повышение уровня фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), фактора роста тромбоцитов (PDGF), гипоксический индуцибельный фактор (HIF) [78, с. 7; 79, с. 1]. Биологические эффекты озона обусловлены образованием АФК и продуктов ПОЛ. Свободные радикалы – это реактивные вещества, способствующие инициации разнообразных патологических процессов. Основными продуцентами данных соединений выступают процессы фагоцитоза и митохондрии [36]. При аутогемотерапии озоном дозозависимо растёт выработка NO и гемоксигеназы-1, увеличивается длина митохондриальных гребней и содержание в них белков теплового шока [80, с. 228]. АФК улучшают доставку O<sub>2</sub> в эритроциты, активируют иммунную систему за счёт стимуляции лейкоцитов, способствуют высвобождению цитокинов и факторов роста в тромбоцитах [2, с. 1096–1097]. Так, ингаляционное воздействие O<sub>3</sub> на пациентов с бронхиальной астмой смесью с низкой концентрацией (100 частей на миллиард) данного газа в течение четырёх часов в специальной камере приводит к усилению хемотаксиса (клеточного, лейкоцитарного, гранулоцитарного) и выработке цитокинов [25, с. 3]. Вследствие индукции озоном лейкоциты мигрируют в лимфу, где цитокины вызывают активацию других иммунных клеток [80, с. 228]. Более того, в стероидорезистентных случаях озонотерапия увеличивает количество Т-киллеров и Т-хелперов, экспрессирующих интерферон-гамма и фактор некроза опухоли-альфа [80, с. 228]. Озон стимулирует диапедез и фагоцитоз, активизирует ретикулогистиоцитарную систему [81, с. 8]. При парентеральном введении данный газ оказывает модулирующее влияние на показатели клеточного иммунитета: уменьшает повышенные и, напротив, повышает сниженные уровни Т-лимфоцитов [83, с. 1]. Озон способствует высвобождению макрофагами и лейкоцитами простагландинов и брадикинина [84, с. 2]. Воздействие озоном на пациентов с ишемией и язвами

приводит к активации интактных тромбоцитов, в их структурах увеличивается высвобождение факторов роста, и, как следствие, ускоряются репаративные процессы [36].

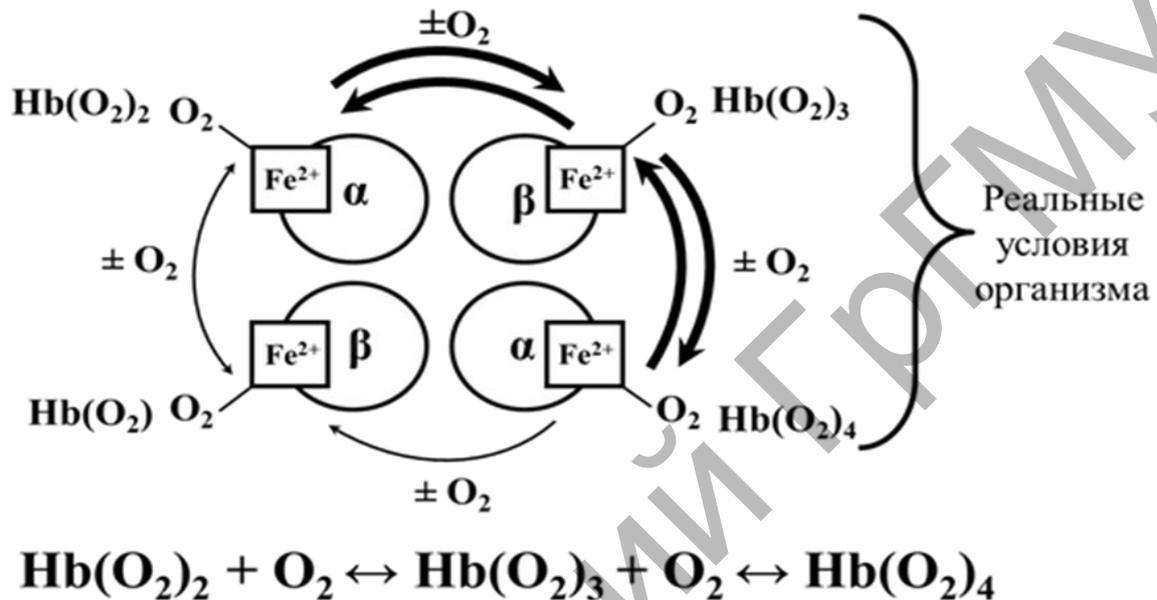
Эритроциты являются основными мишенями для  $O_3$  ввиду их большой площади поверхности [85]. Данные клетки рассматриваются как важное звено управления локальным кровотоком, обеспечивающим эффективную тканевую перфузию и доставку  $O_2$  в ткани в соответствии с метаболическими запросами, причём они не только переносят дыхательные газы, но и активно участвуют в регуляции этого процесса. В ответ на гипоксический стимул или на повышение напряжения сдвига эритроциты могут синтезировать и выделять сигнальные молекулы (АТФ и NO). Данный механизм усиливается добавлением  $O_3$  и приводит к приросту объёмного кровотока [86, с. 189; 87, с. 93].

Озон изменяет структуру и заряд мембраны эритроцитов, в результате чего повышается её эластичность, снижается агрегационная способность, что облегчает прохождение данных клеток через кровеносные сосуды. Представленный механизм приводит к улучшению кровотока и оксигенации, уменьшая гипоксические проявления [88]. В плазме крови после курса озонотерапии отмечается значительное увеличение тромбоцитарного фактора роста и трансформирующего фактора роста  $\beta 1$ , индуцируется процесс гликолиза и гексозный путь в эритроцитах, который активирует цикл Кребса, усиливая процесс окислительного карбоксилирования пирувата, что в итоге стимулирует выработку АТФ, способствуя увеличению оксигенации тканей [88].

Озон регулирует объём эритроцитов за счёт функционирования  $Na^+/K^+$  АТФ-азы. Благодаря активирующему действию данного газа на АТФ-азу, которая обеспечивает транспорт ионов и протонов против концентрационного градиента, сохраняется форма клетки, увеличивается электрофоретическая подвижность, поддерживается мембранный потенциал, возрастает электроотрицательность мембран эритроцитов, что указывает на оптимизацию микроциркуляции и КТФ крови [89]. Парентерально вводимый  $O_3$  повышает эластичность эритроцитов, увеличивает  $pO_2$  в артериальной крови, облегчает высвобождения кислорода из гемоглобина [54]. Озонотерапия также способствует синтезу

эндотелиальной NO-синтазы в эритроцитах, в результате чего усиливается синтез NO – мощного вазодилататора, что улучшает микроциркуляцию [90]. Данный газ активирует метаболизм красных кровяных клеток, насыщая гемоглобин кислородом [91].

Участие гемоглобина в газообмене в капиллярах большого и малого круга кровообращения представлено на рисунке 1.12 [93].



**Рисунок 1.12 – Участие гемоглобина в газообмене в капиллярах большого и малого круга кровообращения [93]**

Снижение хронического окислительного стресса с помощью озонотерапии способствует дифференцировке эритробластов [92, с. 112]. Озонотерапия – патогенетически обоснованный метод профилактики и лечения гипоксических состояний у беременных с анемией, так как улучшает процессы эритропоэза и повышает адаптационные возможности организма [25, с. 66].

Небольшое количество пероксидов  $\text{O}_3$  многократно усиливает потребление кислорода кровью, помимо этого в эритроцитах образуется 2,3-ДФГ, который определяет прочность связи гемоглобина с кислородом, облегчая его отдачу, и улучшает кислородное обеспечение тканей [94]. Также происходит активация макрофагальной защиты, поскольку  $\text{O}_3$  – мощный индуктор интерферона, фактора некроза опухоли, интерлейкина-1, стимулирующего пролиферацию тимоцитов и активирующего Т-киллеры и В-лимфоциты, и некоторых других цитокинов [95, с. 4].

Влияние данного газа на тромбоциты приводит к снижению их способности к агрегации за счёт изменения структуры клеточной мембраны и её заряда [96].

Озон также способствует гипокоагуляции вследствие удлинения тромбинового и активированного частичного тромбопластинового времени, увеличения концентрации тканевого активатора плазминогена. Представленные механизмы улучшают кровообращение и доставку кислорода к поражённым ишемическим тканям [92]. Озон активизирует работу фермента  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы, в результате чего усиливается поступление калия внутрь клеток и выход ионов натрия, что препятствует адгезии эритроцитов и их прилипанию к сосудистой стенке [97]. Воздействие  $\text{O}_3$  на клеточный состав крови – эритроциты, тромбоциты, лейкоциты, эндотелиальные клетки и их внутриклеточные компоненты – формирует мультифакторный, оптимально согласованный метаболический клеточный ответ и сохраняет высокий иммунный статус организма [98]. Озон стимулирует как гуморальную, так и клеточную иммунные системы посредством активации путей, индуцирующих транскрипцию генов, связанных с цитокинами. Следовательно, увеличивается продукция гамма-интерферона, интерлейкина-2 и альфа-фактора некроза опухоли [24]. При парентеральном введении  $\text{O}_3$  происходит его взаимодействие с мембраной эритроцитов в местах двойных связей ненасыщенных жирных кислот, входящих в состав фосфолипидов клеточных мембран [99].

Гемотрансфузия озонированной эритроцитарной массы пациентам с острым гастродуоденальным язвенным кровотечением, улучшает оксигенацию тканей, что существенно снижает прогрессирование некроза язвенного дефекта, а также способствует профилактике разных осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы [100].

При обследовании пациенток с субкомпенсированной формой хронической плацентарной недостаточности, которые получали озонированный изотонический раствор натрия хлорида (объём 200 мл с концентрацией  $\text{O}_3$  400 мкг/л) ежедневно в течение 5–7 суток, были выявлены существенные позитивные сдвиги (в 83,3% случаев), которые проявлялись в нормализации изменённых показателей гемостаза, иммунитета, ПОЛ и АОС защиты [101].

Введение озонированного изотонического раствора натрия хлорида (объём 200 мл с концентрацией  $O_3$  400 мкг/л) беременным женщинам с железодефицитной анемией показало его большую эффективность за счёт антигипоксических свойств, заключающихся в усиленной отдаче кислорода недостаточно кровоснабжаемым тканям, улучшении тканевого дыхания и нормализации реологических свойств крови, что позволило сократить сроки терапии пациенток [102].

Таким образом,  $O_3$  обладает широким спектром эффектов на систему крови и её основные составляющие, что важно для коррекции гипоксии разного генеза. Существенную роль в регуляции данного механизма выполняют и газотрансмиттеры NO и  $H_2S$ .

#### **1.4 Система газотрансмиттеров монооксида азота и сероводорода**

Газотрансмиттеры NO, монооксид углерода (CO) и  $H_2S$  выполняют множество важных функций и играют значительную роль в патогенезе ряда заболеваний [103, с. 23]. Журнал «Science» признал NO «молекулой года», а в 1998 году учёные из США R. F. Furchgott, L. J. Ignarro и F. Murad получили Нобелевскую премию в области физиологии и медицины за определение роли монооксида азота в функционировании живого организма [53, с. 6]. NO синтезируется из L-аргинина в разных тканях с помощью семейства ферментов, называемых синтазами оксида азота (NOC) [103, с. 145], и представляет собой токсичный газ, способный выступать в биосистемах как свободный радикал, имеющий короткий период полураспада, легко подвергающийся различным химическим трансформациям [53, с. 6].

Эндотелиальная и нейрональная изоформы NOC представляют собой конститутивные ферменты с низкой активностью, тогда как изоформа NOC макрофагального типа или индуцибельная изоформа NOC являются ферментами с высокой активностью. Ферменты NOC используют молекулярный  $O_2$  и требуют для своей активности ряд кофакторов. Например, кальмодулин прочно связывается с индуцибельной NOC, способствуя её переходу в активное состояние [105, с. 219].

Биосинтез NO и H<sub>2</sub>S представлен на рисунке 1.13 [104].

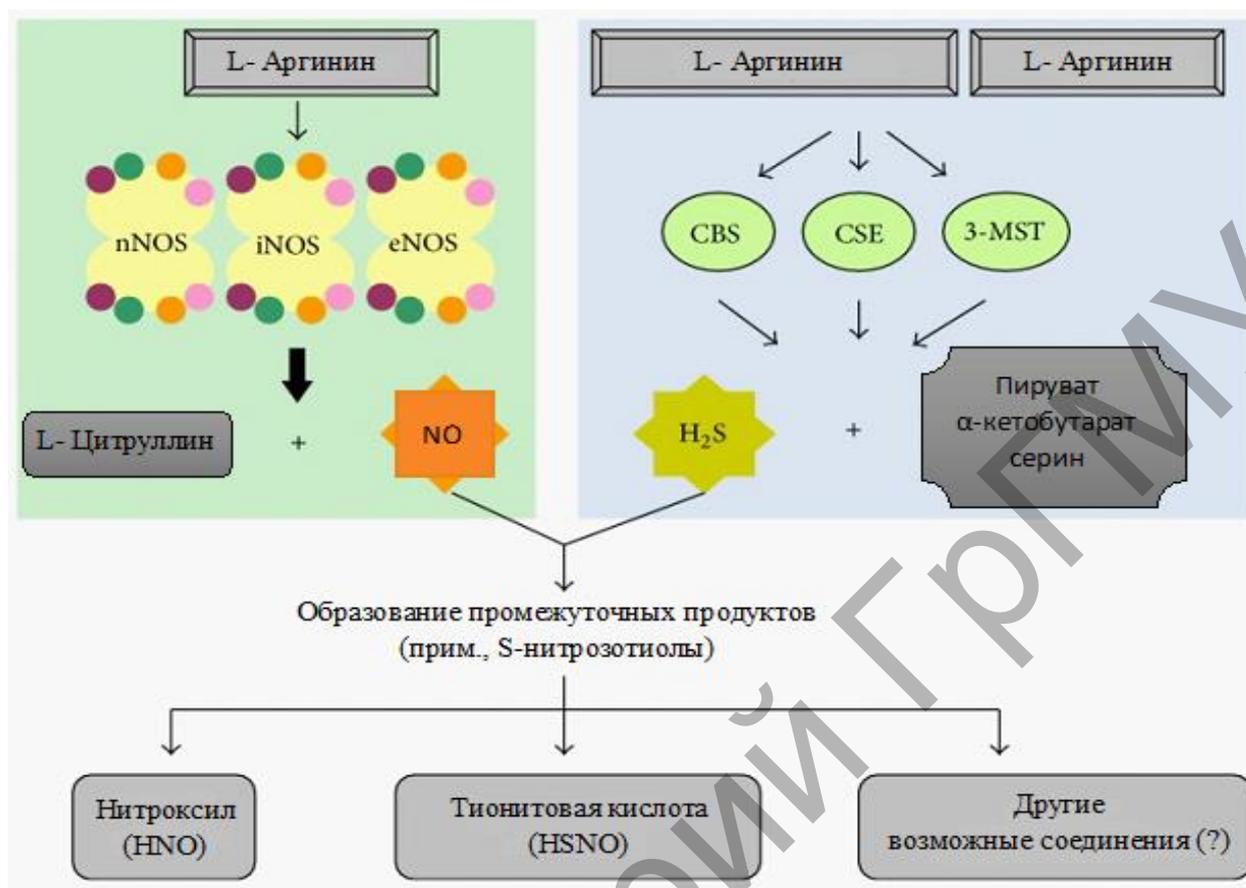


Рисунок 1.13 – Биосинтез NO и H<sub>2</sub>S [104, с. 2]

Биосинтез NO тремя изоформами NOC можно подавить с помощью разных низкомолекулярных ингибиторов, некоторые из них обладают селективностью в отношении отдельных изоформ. NG-метил-L-аргинин ингибирует все изоформы NOC, а метиловый эфир N<sup>G</sup>-L-аргинина (L-NAME) – преимущественно конститутивную изоформу NOC, тогда как другие ингибиторы (например, аминогуанидин) воздействуют на индуцибельную NOC [106, с. 542]. Увеличение концентрации NO под влиянием O<sub>3</sub>, вероятно, связано с его способностью активировать гены, облегчающие экспрессию NO-синтазы. Более того, стимуляция O<sub>3</sub> выработки антиоксидантных ферментов также способствует увеличению синтеза NO эндотелием [107, с. 1; 92].

Инкубация эритроцитов с донорами монооксида азота или со стимулятором NO-синтазы (L-аргинином) способствует положительным изменениям их микрореологии [109, с. 91].

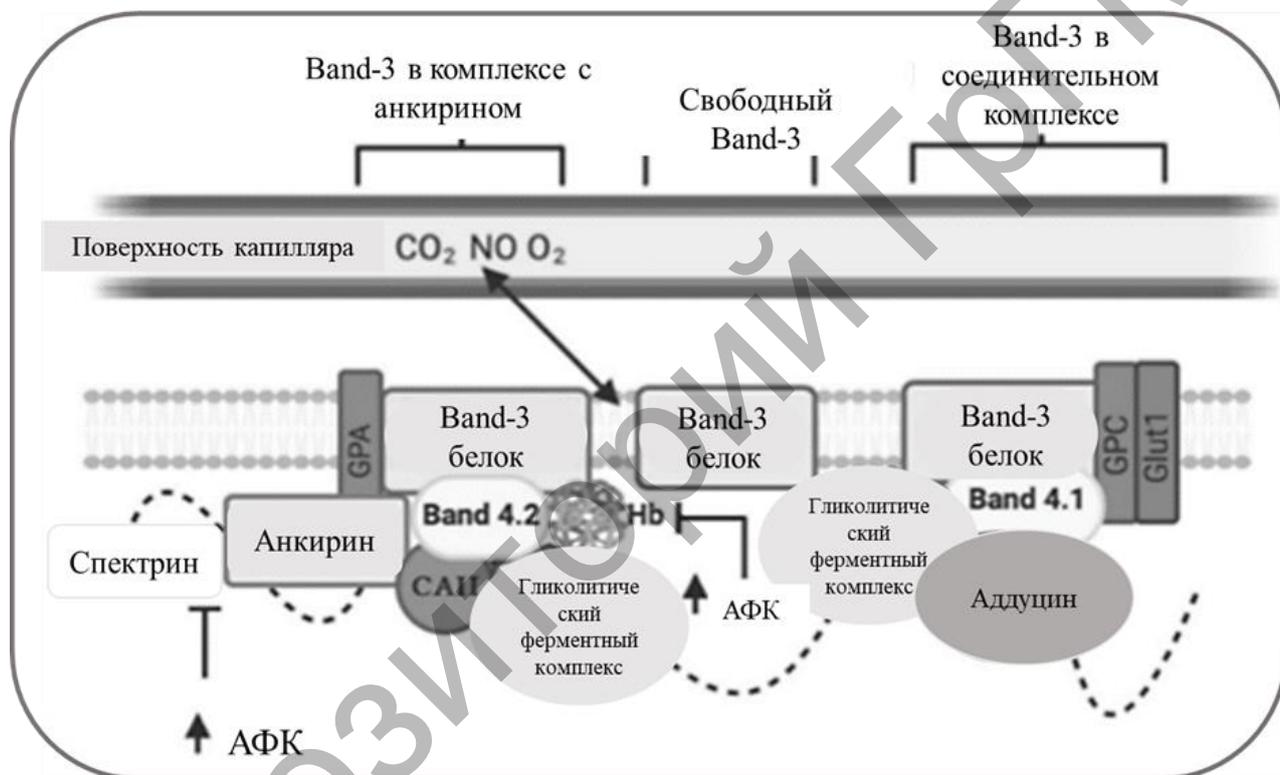
Цикл NO включает два компонента: NO-синтазные реакции, заключающиеся в трансформации L-аргинина в L-цитруллин, и NO, который далее окисляется до нитритов и нитратов; нитритредуктазную реакцию, катализируемую электронодонорными системами с участием котинамидадениндинуклеотида (НАДН), НАДФН, флавопротеинов, дезоксигемоглобина и цитохрома P450 [53, с. 7]. L-аргинин-NO система эритроцитов поддерживает постоянство внутренней среды организма, в частности обеспечивает КТФ крови. С использованием спектроскопии электронного парамагнитного резонанса и абсорбционной спектроскопии установлена высокая способностью эритроцитов к поглощению NO [111, с. 79]. В отношении клеточной молекулярной мишени для данной сигнальной молекулы в эритроцитах выявлено, что после ингибирования растворимой гуанилатциклазы микрореологические ответы на введение донора NO практически полностью устранялись [109, с. 91]. Значительную роль в процессах депонирования и высвобождения NO играют окислители, в том числе и O<sub>3</sub>, на что указывает их влияние на формирование S-нитротиолов [53, с. 10]. Существенное снижение агрегации эритроцитов под воздействием NO ведёт к уменьшению вязкости крови при низких скоростях сдвига, что характерно для венул и вен, и тем самым способствует увеличению текучести крови, что обеспечивает эффективный венозный возврат [109, с. 91].

Структура и взаимодействие основных мембранных белковых комплексов эритроцитов представлены на рисунке 1.14 [110].

Установлена обратно пропорциональная зависимость между средней концентрацией гемоглобина в эритроците и его способностью к поглощению NO, а также выявлена роль аминокислотного состава и структуры гемоглобина на функционирование NO-системы эритроцитов [111, с. 79]. При инкубации данных клеток с донором оксида азота (натрия нитропруссидом) было показано умеренное увеличение (на 8–10%,  $p < 0,05$ ) их деформируемости и выраженное снижение агрегации, при этом отмечался дозозависимый эффект [109, с. 91].

В ряде научных работ указывается на важную регуляторную роль H<sub>2</sub>S в условиях гипоксии. При исследовании механического и электрического ответов изолированных кровеносных сосудов

на гипоксию было высказано предположение, что  $H_2S$  играет роль сенсора  $O_2$ , поскольку ингибирование его синтеза блокирует ответ на гипоксию, и концентрация  $H_2S$  в сосуде регулируется балансом между продукцией эндогенного  $H_2S$  и его окислением кислородом [61, с. 9] (рисунок 1.15). Установлено, что инкубация эритроцитов с натрия гидросульфидом ( $NaHS$ ) сопровождается приростом их деформируемости (на 8–12%,  $p < 0,01$ ) и заметным уменьшением агрегации (на 16–24%). В качестве молекулярной мишени  $H_2S$  в клетках чаще всего рассматривают АТФ-зависимые  $K^+$ -каналы [109].

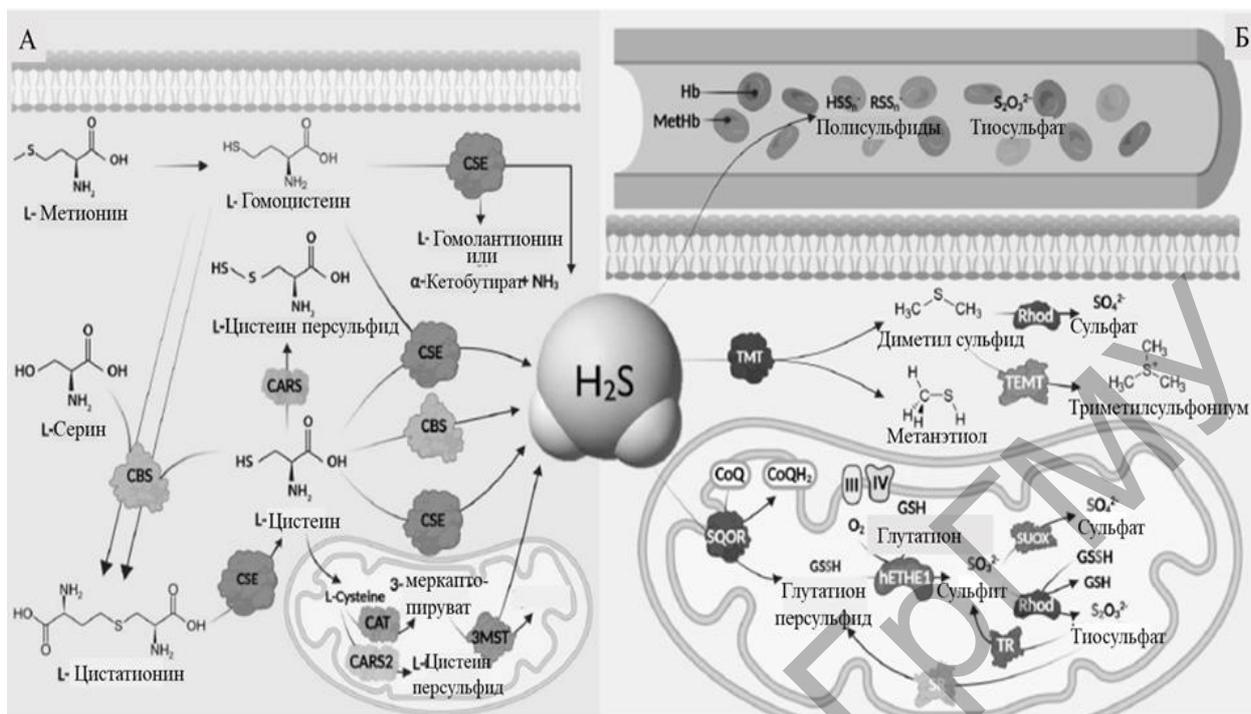


**Рисунок 1.14 – Структура и взаимодействие основных мембранных белковых комплексов эритроцитов [110]**

Примечание – GPA: гликофорин А; САII: карбоангидраза; GPC: гликофорин С; GLUT1: транспортер глюкозы 1.

Пути метаболизма  $H_2S$  представлены на рисунке 1.15 [112].

Газотрансмиттер  $H_2S$  продуцируется в разных клетках и тканях млекопитающих тремя основными ферментами – цистатионин- $\beta$ -синтазой (CBS), цистатионин- $\gamma$ -лиазой (CSE) и 3-меркаптопируват-серотрансферазой [49].



**Рисунок 1.15 – Пути метаболизма H<sub>2</sub>S.**

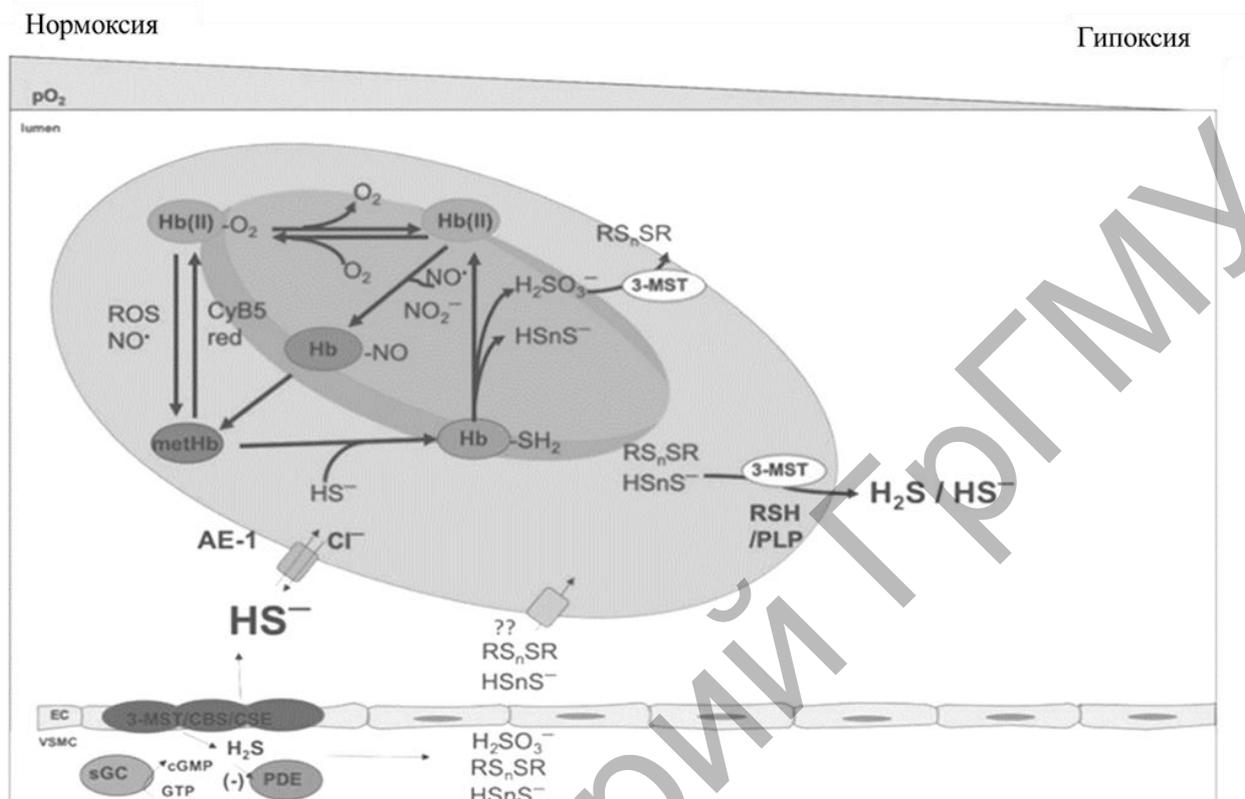
**(А) Анаболические пути H<sub>2</sub>S в цитоплазме и митохондриальном матриксе.**

**(Б) Ферментативные и неферментативные катаболические пути H<sub>2</sub>S либо через окисление, либо через метилирование, где окисление происходит в митохондриях ферментативно или в крови неферментативно [112]**

Примечание – SQOR: сульфидхион оксидоредуктаза; hETHE1: белок 1 этилмалоновой энцефалопатии человека; Rhod: роданеза; SUOX: сульфит оксидаза; TR: тиосульфатредуктаза; SR: сульфуртрансфераза; III: комплекс III; IV: комплекс IV; TMT: тиол S-метилтрансфераза.

Цистатионин-β-синтаза и цистатионин-γ-лиаза – пиридоксальфосфат-зависимые ферменты, использующие L-цистеин и гомоцистеин в качестве субстратов, тогда как субстратом 3-меркаптопируват-серотрансферазы является 3-меркаптопируват, который продуцируется из L-цистеина с помощью аминотрансферазы (рисунок 1.16). Дополнительный ферментативный путь производства H<sub>2</sub>S, включающий 3-меркаптопируват-серотрансферазу и оксидазу D-аминокислот, обнаружен в почках [113, с. 1]. Цистатионин-β-синтаза, цистатионин-γ-лиаза и 3-меркаптопируват-серотрансфераза – конститутивные ферменты с разными уровнями экспрессии в тканях и органах. Важно отметить, что цистатионин-β-синтазу и цистатионин-γ-лиазу можно ингибировать соединениями с разной степенью селективности.

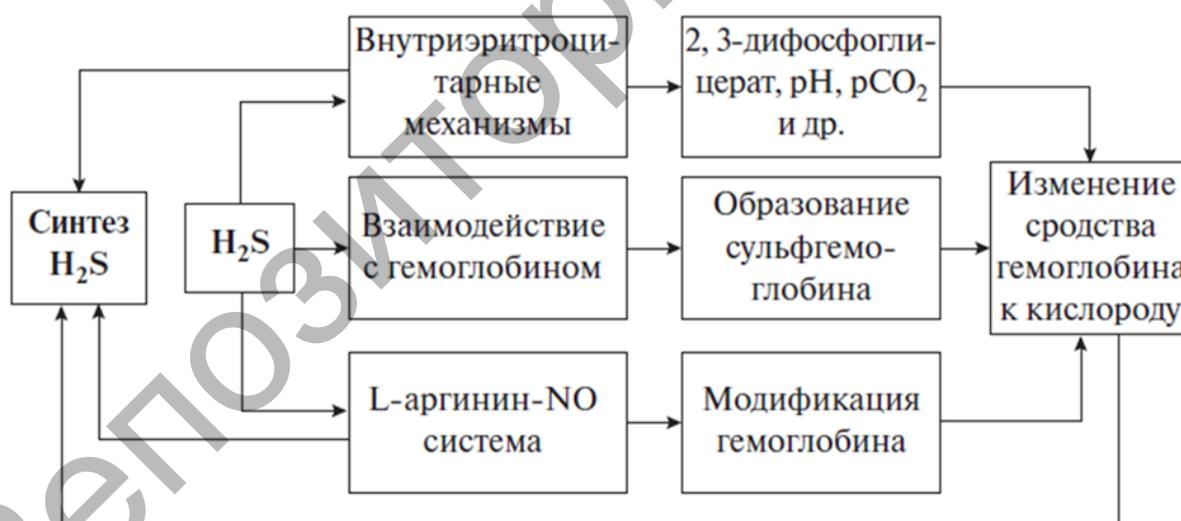
DL-пропаргилглицин (PAG) наиболее часто используется для ингибирования цистатионин-β-синтазы [113, с. 2]. Роль эритроцитов в метаболизме сульфидов представлена на рисунке 1.16 [114].



**Рисунок 1.16 – Эритроциты как центральное звено метаболизма сульфидов: поглощение, очистка, метаболизм, высвобождение сульфида и перекрестные взаимодействия с NO [114]**

H<sub>2</sub>S активирует многие внутриклеточные сигнальные пути: открывает АТФ-чувствительные калиевые каналы и косвенно стимулирует путь гуанилатциклазы – циклический гуанозинмонофосфат (цГМФ), ингибируя фосфодиэстеразы цГМФ, что в итоге приводит к вазодилатации и ангиогенезу [115, с. 927–930]. Установлено, что глибенкламид не препятствует приросту деформируемости эритроцитов под действием NaHS, а ингибирование растворимой гуанилатциклазы полностью устраняет прирост деформируемости и значительно снижает агрегационную способность данных клеток [109]. В физиологических концентрациях H<sub>2</sub>S может также стимулировать биоэнергетическую функцию клетки, отдавая электроны митохондриальной цепи переноса электронов и увеличивая уровни цАМФ [116, с. 2111].

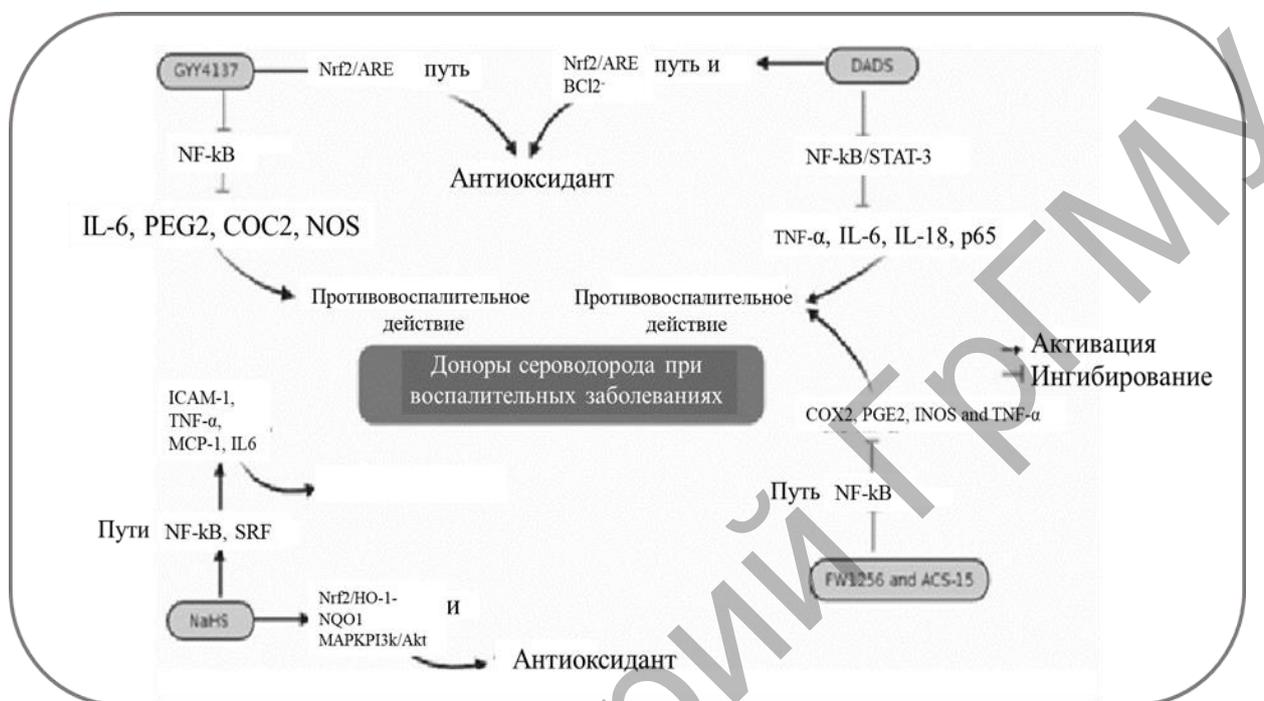
Эндогенный  $H_2S$  индуцирует реакцию S-сульфгидратации, которая приводит к модификации белков, изменяя их структуру и функции (рисунок 1.17). Отмечается позитивная роль  $H_2S$  как регулятора сердечно-сосудистой системы [117, с. 12]. Установлено, что инкубация эритроцитов с донором  $H_2S$  натрия гидросульфидом сопровождается приростом их деформируемости (на 8–12%,  $p < 0,01$ ) и заметным уменьшением агрегации (на 16–24%,  $p < 0,01$ ) [109]. Важно отметить, что при контакте с  $O_2$  или перекисью водорода  $H_2S$  быстро превращается в полисульфиды, однако пока неясно, вовлечены ли данные соединения в опосредуемый  $H_2S$  ответ каротидных телец на гипоксию или в регулируемые  $H_2S$  функции NIF [61, с. 9]. Поскольку эндогенные концентрации  $H_2S$  обычно низкие, это затрудняет определение точных биологических функций, поэтому исследования физиологической роли  $H_2S$  с его экзогенной доставкой в виде доноров зачастую осуществляются на клеточных моделях микрореологических ответов эритроцитов [109]. Основные механизмы реализации эффекта сероводорода на сродство гемоглобина к кислороду представлены на рисунке 1.17 [108].



**Рисунок 1.17 – Основные механизмы реализации эффекта сероводорода на сродство гемоглобина к кислороду [108]**

Сероводород в низких концентрациях вызывает цитопротекторные реакции антиоксидантного типа, тогда как более высокие концентрации могут приводить к митохондриальному ингибированию и даже к гибели клеток. Важно, что в то время как

низкие концентрации  $H_2S$  обычно обладают противовоспалительным действием, более высокие могут стимулировать разные провоспалительные механизмы [118, с. 793]. Механизмы действия доноров  $H_2S$  при воспалительных заболеваниях представлены на рисунке 1.18 [119].



**Рисунок 1.18 – Механизмы действия доноров  $H_2S$  при воспалительных заболеваниях [119]**

Примечание – DADS: серосодержащее соединение, полученное из чеснока, диаллилдиисульфид; GYY4137: морфолин-4-иум 4-метоксифенил-морф холино-фосфинодитиоат; Nrf2-ARE: фактор-2, связанный с ядерным фактором-E2; ICAM-1: молекулы адгезии.

NO и  $H_2S$  как газотрансмиттеры обладают общими свойствами: свободно проницаемы для клеточных мембран, генерируются эндогенно и ферментативно, их производство точно регулируется, имеют чётко определенные функции при физиологически значимых концентрациях [120, с. 1792].

Гемовые структуры играют важную роль в регуляции ферментов синтеза NO и  $H_2S$ , а сигнальные пути могут взаимно влиять на функции разных органов. Показано, что доноры  $H_2S$  увеличивают активность эндотелиальной NOC через фосфорилирование Ser1177 и протеинкиназы B, а следовательно, увеличивают продукцию NO. Вероятно,  $H_2S$  взаимодействует

с окисленными формами NO ( $\bullet$ NO) или активными формами азота ( $\text{ONOO}^-$ ) в присутствии клеточных оксидантов, таких как молекулярный  $\text{O}_2$ , АФК (например,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) и оксидазы, при этом могут образовываться новые молекулы – нитрозотиол, азотно-серная кислота [121, с. 35].

Данные газотрансмиттеры за счёт сходных механизмов воздействия, как правило, регулируют схожие функции [122, с. 374]. Показано, что NO или  $\text{H}_2\text{S}$  также могут влиять на концентрацию друг друга [64]. В связи с этим, наряду с изучением эффектов, которые проявляют NO и  $\text{H}_2\text{S}$  изолированно, особый интерес вызывает «перекрестное взаимодействие» между данными молекулами [123; 124, с. 1155]. В ряде работ установлено, что газотрансмиттеры (NO, CO и  $\text{H}_2\text{S}$ ) взаимодействуют, оказывая влияние на биодоступность и реакционную способность [124, с. 1156]. На рисунке 1.19 представлены механизмы синтеза NO и  $\text{H}_2\text{S}$ .

Природа взаимодействия до сих пор неясна и, вероятно, зависит от исследуемой системы. NO и  $\text{H}_2\text{S}$  могут влиять на образование ферментов, необходимых для синтеза данных газотрансмиттеров или изменять экспрессию соответствующих синтезирующих ферментов, а также взаимодействовать на уровне метаболитов [126, с. 402]. Так, субстраты NOC или доноры NO могут усиливать экспрессию ферментов, продуцирующих  $\text{H}_2\text{S}$ : натрия нитропруссид увеличивает активность цистатион- $\beta$ -синтазы в суспензии клеток головного мозга крыс; L-аргинин усиливает экспрессию мРНК для цистатионин- $\gamma$ -лиазы и её активность в лёгочной ткани; инкубация с донорами NO увеличивает продукцию  $\text{H}_2\text{S}$  в кровеносных сосудах [121, с. 35].

NO ингибирует активность цистатионин  $\beta$ -синтазы, связываясь с её гемовой группой [127, с. 245]. Образование пятикоординатного нитрозильного комплекса двухвалентного железа ухудшает связывание цистатионин  $\beta$ -синтазы с его эндогенными лигандами (цистеином и гомоцистеином). Показано, что NaSH непосредственно ингибирует рекомбинантную форму бычьей эндотелиальной NOC предположительно через следующий механизм: ферментативная активность эндотелиальной NOC ингибируется потенциальным взаимодействием между NaSH и кофакторами эндотелиальной NOC, такими как НАДФН или тетрагидробиоптерин [128, с. 138].

## Газообразные трансммиттеры

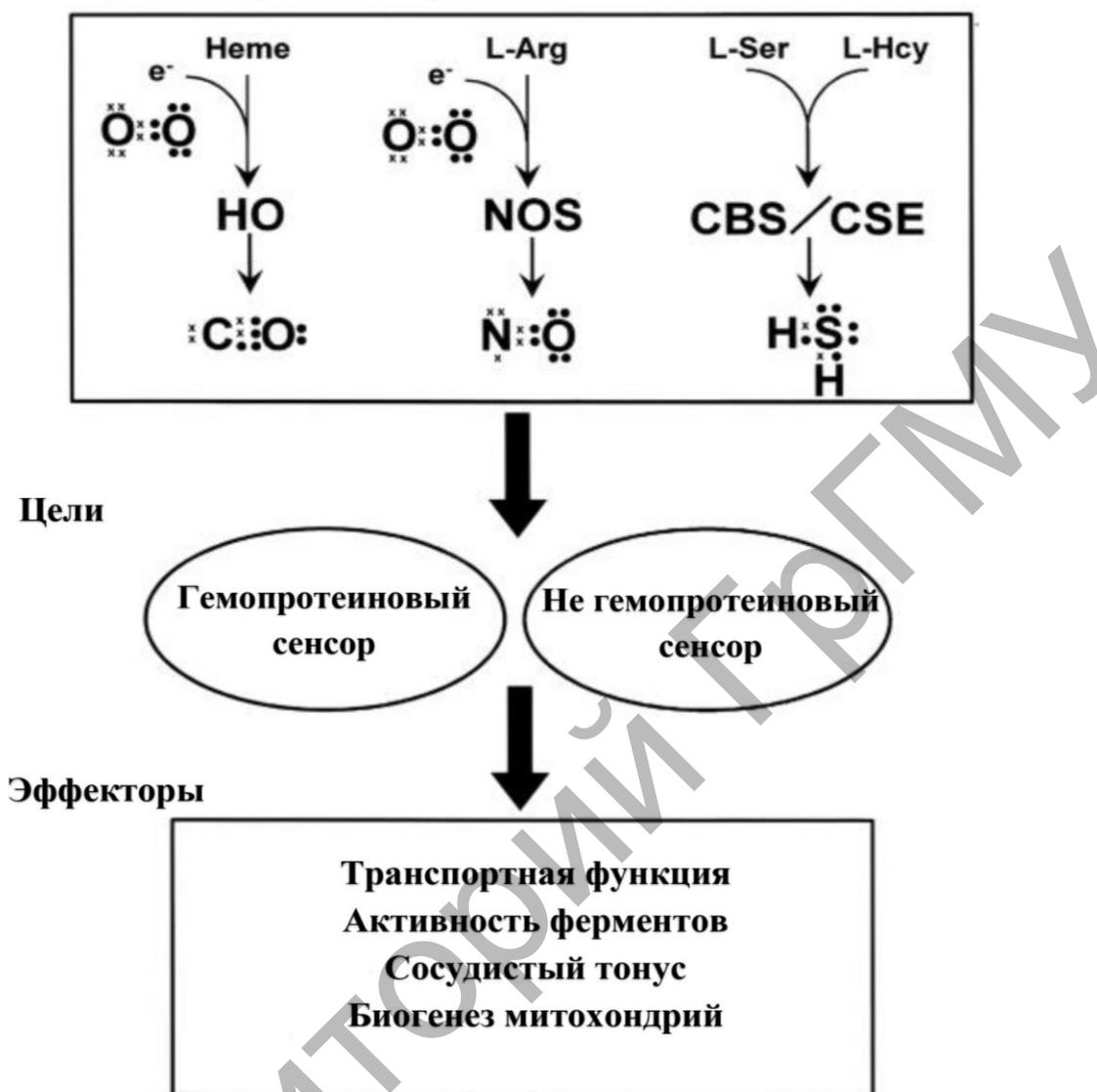


Рисунок 1.19 – Биосинтез NO и H<sub>2</sub>S [125, с. 159]

H<sub>2</sub>S и NO могут не только ингибировать синтез друг друга, но и активировать. NO увеличивает эндогенную продукцию H<sub>2</sub>S за счёт повышения экспрессии цистатионин-γ-лиазы и цистатионин-β-синтазы в гладкомышечных клетках сосудов [129, с. 474]. Донор сероводорода NaSH усиливает синтез NO за счёт активации индуцированной интерлейкин-1β экспрессии индуцибельной NOS [130, с. 938]. Обнаружено, что добавление L-цистеина стимулирует продукцию NO в эндотелиальных клетках пупочной вены человека, в то время как ингибирование цистатионин-γ-лиазы блокирует её – это подтверждает наличие корреляции между ферментативным синтезом H<sub>2</sub>S и NO [131, с. 879].

Очевидно, что данные газотрансмиттеры влияют на синтез друг друга, могут напрямую взаимодействовать с образованием новых молекулярных объектов, которые в свою очередь модулируют их физиологические эффекты и биодоступность. Взаимодействие натрия нитропруссида и  $\text{H}_2\text{S}$  приводит к образованию нитрозотиолоподобных частиц, оказывающих какие же физиологические эффекты, как  $\text{NO}$  [132, с. 303–304]. Взаимодействие между натрия нитропруссидом и  $\text{NaSH}$  способствует увеличению силы сократительной способности миокарда в сердцах крыс и зависит от образования нитроксила ( $\text{HNO}$ ) [133, с. 482–483]. В некоторых исследованиях показано, что взаимодействие  $\text{H}_2\text{S}$  с S-нитрозотиолами индуцирует образование  $\text{NO}$  [126, с. 402].

Газотрансмиттеры  $\text{H}_2\text{S}$  и  $\text{NO}$  посредством различных механизмов могут воздействовать на кислородзависимые процессы на молекулярном и клеточных уровнях, однако участие  $\text{O}_3$  в реализации данных эффектов недостаточно изучено, что обуславливает необходимость проведения исследований в этой области.

Таким образом, проведённый анализ научной литературы, посвящённой характеристике эффектов  $\text{O}_3$ , демонстрирует влияние данного газа на физиологические функции организма при разных вариантах его использования для коррекции патологических состояний. Однако особый интерес представляет воздействие озона на кислородсвязывающие свойства крови, что обосновывает целесообразность проведения исследования по оценке изменений показателей кислородсвязывающих свойств крови и прооксидантно-антиоксидантного баланса. Также остаётся неизученным вопрос о вкладе газотрансмиттеров  $\text{NO}$  и  $\text{H}_2\text{S}$  в эффект  $\text{O}_3$  на СГК.

На основании изложенного представляется возможным изучение вклада газотрансмиттеров в эффект  $\text{O}_3$  на изменение показателей, отражающих кислородзависимые процессы.

## Глава 2

### ЭФФЕКТ ОЗОНА НА КИСЛОРОДЗАВИСИМЫЕ ПРОЦЕССЫ КРОВИ ПРИ РАЗНЫХ РЕЖИМАХ ВОЗДЕЙСТВИЯ

Использование лекарственных препаратов в ряде случаев имеет негативные последствия для организма, что определяет интерес к альтернативным немедикаментозным методам лечения, в частности к озонотерапии, нашедшей в последние годы широкое применение в клинической практике [141, с. 5–10]. Озон обладает большим разнообразием физиологических эффектов, в том числе влияет на кровь. Воздействие озono-кислородной смесью с концентрацией озона 10–100 мкг/л на кровь собак, обуславливает выраженное увеличение уровня напряжения кислорода [142]. При введении крысам после кровопотери отмытых эритроцитов (0,5 мл) и озонированного физиологического раствора (2 мл с концентрацией озона 2 мг/л), происходит увеличение электрофоретической подвижности красных клеток крови, улучшаются реологическое состояние крови и микроциркуляция, что позволяет оптимизировать процесс транспорта кислорода в ткани [143]. Инкубация эритроцитарной массы с озонированным изотоническим раствором натрия хлорида (1–3 мг/л) приводит к увеличению содержания АТФ и 2,3-ДФГ [144, с. 37], что позволяет предполагать участие данного газа в изменении СГК; однако таких исследований почти не проводилось. В связи с этим представляет интерес изучение эффекта озона непосредственно на кислородсвязывающие свойства крови.

В данной главе изложены результаты, характеризующие изменения параметров кислородсвязывающих свойств крови и её прооксидантно-антиоксидантного баланса после добавления озонированного физиологического раствора при разных вариантах экспозиции.

Изотонический раствор 0,9% NaCl барботировался озono-кислородной смесью с помощью озонотерапевтической установки

УОТА-60-01 «Медозон» (Российская Федерация), представленной на рисунке 2.1.



Рисунок 2.1 – Озонотерапевтическая установка УОТА-60-01 «Медозон»

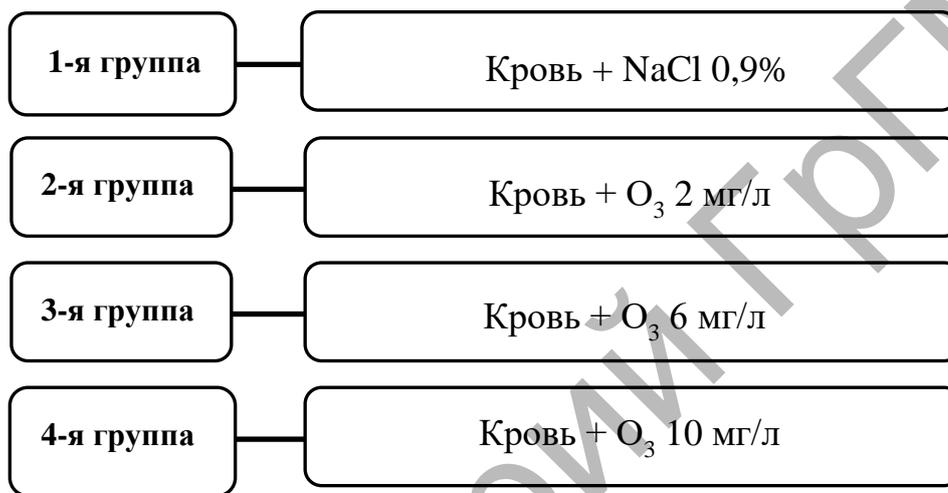
Установка генерирует озono-кислородные смеси: диапазон значений концентрации  $O_3$  на выходе установки – от 0 до 60 мг/л [паспорт и инструкция по эксплуатации установки озонаторной терапевтической автоматической УОТА-60-01 «Медозон», ООО фирма «Медозон»]. В установке предусмотрено измерение концентрации озона оптическим методом в ультрафиолетовом диапазоне.

## 2.1 Изменение кислородсвязывающих свойств крови при действии озона

С учётом проведённого анализа литературы и поставленной цели исследования была выбрана модель экспериментальных серий *in vitro* при разных концентрациях и времени экспозиции. В данной серии опытов объектом исследования являлась смешанная венозная кровь (3 мл), которая была разделена на четыре группы экспериментальных образцов по 10 проб в каждой: группа 1

(контрольная) – добавляли 1 мл 0,9% раствора натрия хлорида; группы 2, 3, 4 – добавляли данный раствор с концентрацией  $O_3$  2 мг/л, 6 мг/л, 10 мг/л соответственно. Время инкубации составило 30 и 60 минут. В группах экспериментальных образцов крови контролировалась степень гемолиза по концентрации свободного гемоглобина в плазме, согласно полученным результатам его величина была от 10 до 50 мг/л, что укладывается в диапазон нормы и сопоставимо с литературными данными [134].

Схема эксперимента представлена на рисунке 2.2.



**Рисунок 2.2 – Схема эксперимента по изучению эффекта озона на кислородсвязывающие свойства крови**

В представленном разделе приводятся данные о характере изменения кислородсвязывающих свойств крови под воздействием  $O_3$  при разных его концентрациях и времени инкубации (таблица 2.1). В группах экспериментальных образцов при каждом последующем увеличении концентрации данного фактора отмечается уменьшение  $pCO_2$  при экспозиции 30 и 60 минут. Так, при концентрации  $O_3$  2 мг/л наблюдается уменьшение  $pCO_2$  до 37,1 [36,1; 39,4] ( $p < 0,05$ ) и 33,9 [31,1; 39,2] ( $p < 0,05$ ) мм рт. ст. при экспозиции 30 и 60 мин соответственно по сравнению с контролем (39,6 [38,4; 40,2] и 39,9 [37,3; 41,9] мм рт. ст.).

Кроме того, в данной группе образцов отмечается рост значений pH до 7,371 [7,362; 7,391] ( $p < 0,05$ ) и 7,394 [7,382; 7,421] ( $p < 0,05$ ) при экспозиции 30 и 60 мин соответственно, а также значимое снижение концентраций  $HCO_3^-$ ,  $TCO_2$ , SBC при указанных экспозициях по сравнению с контролем. Полученные результаты

свидетельствуют о сдвиге кислотно-основного состояния, усиливающимся с увеличением концентраций  $O_3$ .

Кроме того, в данной группе образцов отмечается рост значений pH до 7,371 [7,362; 7,391] ( $p < 0,05$ ) и 7,394 [7,382; 7,421] ( $p < 0,05$ ) при экспозиции 30 и 60 мин соответственно, а также значимое снижение концентраций  $HCO_3^-$ ,  $TCO_2$ , SBC при указанных экспозициях по сравнению с контролем. Полученные результаты свидетельствуют о сдвиге кислотно-основного состояния, усиливающимся с увеличением концентраций  $O_3$ .

Таблица 2.1 – Эффект озона на кислородсвязывающие свойства крови при разной концентрации и времени инкубации (Me [25; 75])

Показатель	Контроль	Озон		
		2 мг/л	6 мг/л	10 мг/л
n	10	10	10	10
Экспозиция 30 мин				
$SO_2$ , %	32,3 [30,8; 33,8]	34,1 [32,4; 35,2]*	37,6 [34,8; 38,6]*#	39,2 [37,6; 40,7]*#Ψ
$pO_2$ , мм рт. ст.	22,2 [19,6; 23,3]	24,7 [21,9; 28,7]*	27,5 [26,7; 31,4]*#	31,4 [29,2; 33,4]*#Ψ
pH, ед.	7,351 [7,325; 7,372]	7,371 [7,362; 7,391]*	7,393 [7,381; 7,402]*#	7,411 [7,390; 7,433]*#Ψ
$pCO_2$ , мм рт. ст.	39,6 [38,4; 40,2]	37,1 [36,1; 39,4]*	35,4 [34,6; 36,7]*#	33,7 [32,8; 35,7]*#Ψ
$HCO_3^-$ , ммоль/л	21,6 [20,8; 23,5]	20,2 [18,9; 21,3]*	18,15 [18,1; 19,3]*#	17,7 [17,4; 18,2]*#Ψ
$TCO_2$ , ммоль/л	22,75 [21,7; 24,7]	21,4 [20,3; 22,4]*	20,25 [19,5; 20,6]*#	19,25 [18,5; 19,7]*#Ψ
ABE, ммоль/л	-4,05 [-4,7; -3,1]	-5,15 [-7; -4,2]*	-6,9 [-7,8; -6,6]*#	-7,9 [-9,4; -7,1]*#Ψ
SBE, ммоль/л	-2,7 [-2,9; -1,4]	-3,45 [-4,4; -2,3]*	-4,2 [-5,6; -3,8]*#	-5,5 [-6,1; -5,1]*#Ψ
SBC, ммоль/л	21,5 [20,7; 21,7]	20,5 [19; 21,1]*	19,0 [18,6; 19,4]*#	18,2 [17,2; 18,7]*#Ψ
Экспозиция 60 мин				
$SO_2$ , %	30,6 [28,9; 32,4]	32,7 [32,3; 33,9]*	35,8 [33,4; 37,9]*#	38,7 [36,8; 40,8]*#Ψ
pH, ед.	7,332 [7,330; 7,361]	7,394 [7,382; 7,421]*	7,415 [7,401; 7,432]*#	7,433 [7,422; 7,443]*#Ψ

Продолжение таблицы 2.1

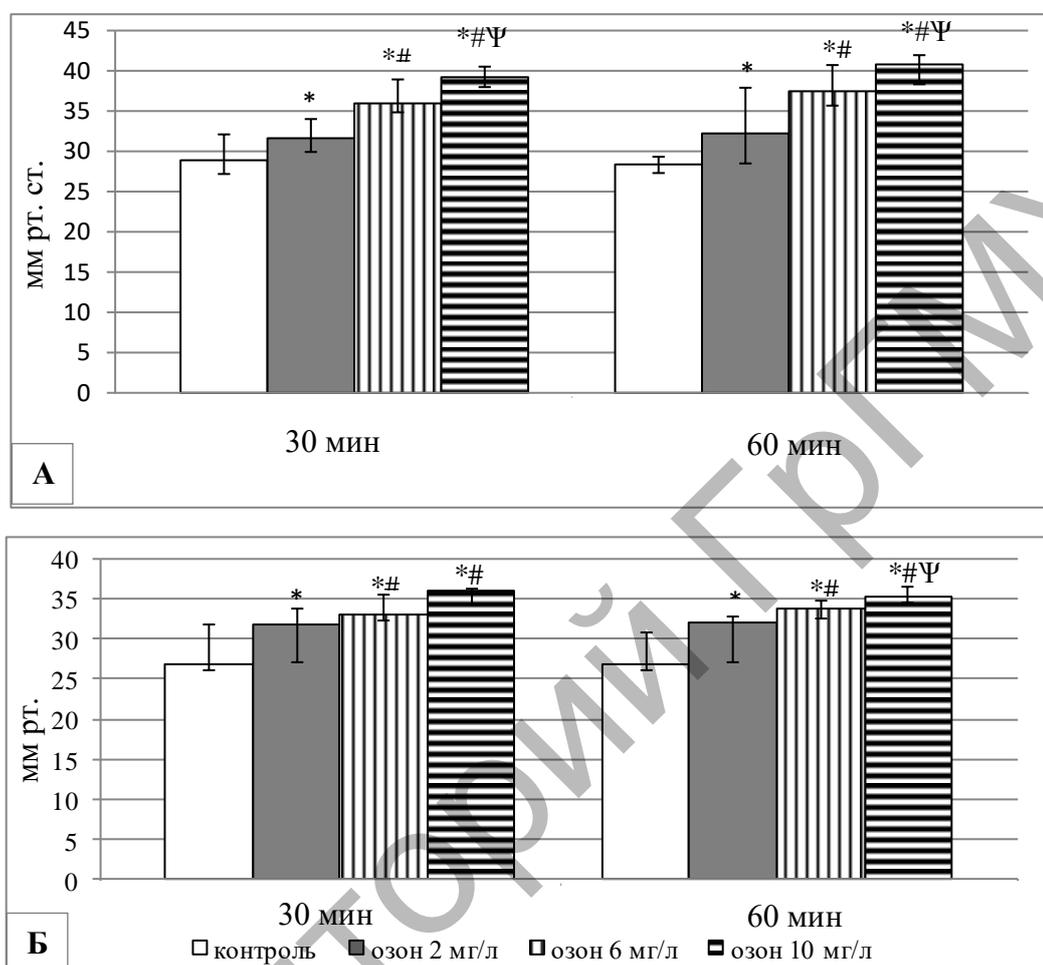
Показатель	Контроль	Озон		
		2 мг/л	6 мг/л	10 мг/л
n	10	10	10	10
pCO <sub>2</sub> , мм рт. ст.	39,9 [37,3; 41,9]	33,9 [31,1; 39,2]*	30,1 [29,3; 33,6]*#	27,5 [27,1; 30,1]*#Ψ
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , ммоль/л	21,5 [20,7; 23,4]	20,45 [19,7; 21,2]*	19,0 [18,5; 19,3]*#	17,8 [17,4; 18,3]*#Ψ
TCO <sub>2</sub> , ммоль/л	22,75 [22,6; 24,6]	21,3 [21; 22,7]*	20,1 [19,4; 20,3]*#	18,9 [18,4; 19,3]*#Ψ
ABE, ммоль/л	-3,95 [-4,4; -3,3]	-5,2 [-7,1; -3,8]*	-7,05 [-7,5; -6,5]*#	-7,55 [-8,2; -7,4]*#Ψ
SBE, ммоль/л	-2,85 [-3,1; -2,2]	-3,4 [-5,7; -2,8]*	-4,7 [-6,5; -4,3]*#	-6,3 [-6,5; -5,8]*#Ψ
SBC, ммоль/л	21,55 [21,3; 22,1]	20,7 [18,8; 21,3]*	19,0 [18,3; 19,6]*#	18,0 [17,6; 18,5]*#Ψ

Примечание – \* – достоверные изменения в сравнении с контролем; # – с группой образцов 2 мг/л озона; Ψ – с группой образцов 6 мг/л озона.

При инкубации крови с разной концентрацией O<sub>3</sub> отмечается выраженный рост pO<sub>2</sub>. Так, при концентрации O<sub>3</sub> 2 мг/л этот параметр возрастает с 22,2 [19,6; 23,3] до 24,7 [21,9; 28,7] (p<0,05) мм рт. ст. и с 22,1 [19,0; 23,1] до 24,7 [21,4; 28,5] (p<0,05) мм рт. ст. при экспозициях 30 и 60 мин соответственно. При наибольшей концентрации O<sub>3</sub> (10 мг/л) отмечается выраженный прирост pO<sub>2</sub> – до 31,4 [29,2; 33,4] (p<0,05) мм рт. ст. при экспозиции 30 мин и до 30,9 [28,6; 32,9] (p<0,05) мм рт. ст. при экспозиции 60 минут. Подобная тенденция наблюдается и по отношению к SO<sub>2</sub>: значение возрастает до 39,2 [37,6; 40,7]% (p<0,05) и 38,7 [36,8; 40,8]% (p<0,05) при экспозициях 30 и 60 мин соответственно в сравнении с контролем. Показатель SGK p50<sub>реал</sub> при воздействии O<sub>3</sub> возрастает (рисунок 2.3 А). Отмечается его увеличение при концентрации O<sub>3</sub> 2 мг/л с 28,9 [27,2; 31,3] мм рт. ст. в контроле до 31,6 [28,6; 36,1] (p<0,05) мм рт. ст. и экспозиции 30 мин; с 28,4 [27,3; 29,3] мм рт. ст. в контроле до 32,2 [28,5; 37,9] мм рт. ст. (p<0,05) при экспозиции 60 мин, что свидетельствует о сдвиге КДО вправо (рисунок 2.4).

Схожая динамика изменений была и по показателю p50<sub>станд</sub> (рисунок 2.3 Б). При этом его значения возрастали с 26,8 [26,2; 31,7]

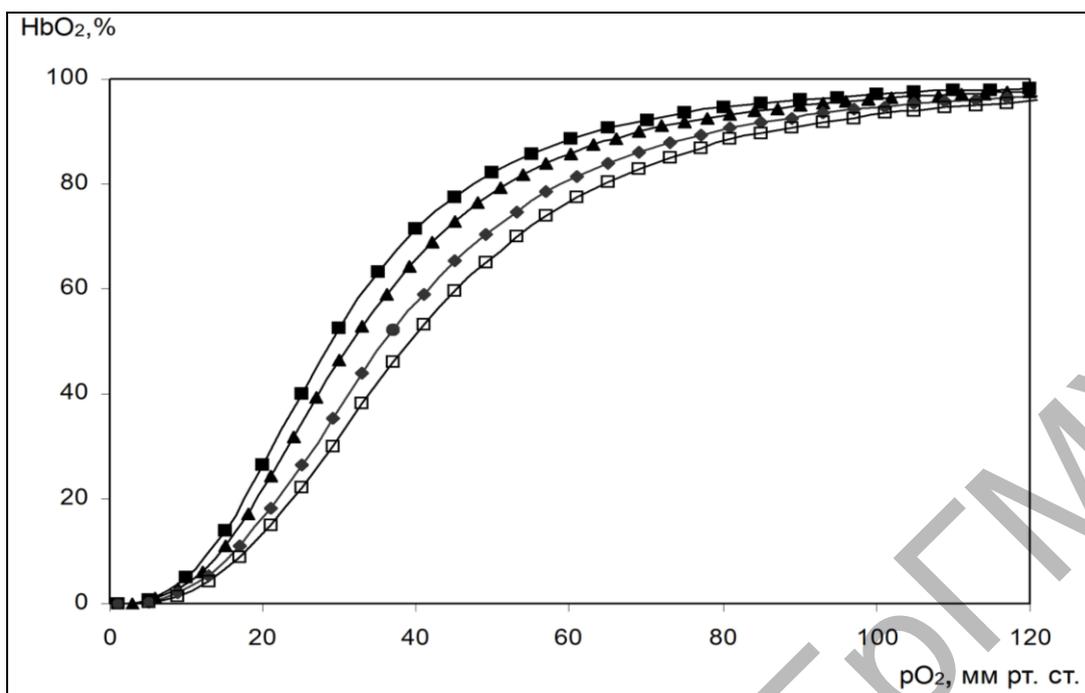
до 31,8 [27,1; 33,6] ( $p < 0,05$ ) мм рт. ст. при экспозиции 30 мин и с 26,8 [26,2; 30,8] до 32,2 [27,2; 32,8] ( $p < 0,05$ ) мм рт. ст. при экспозиции 60 минут.



**Рисунок 2.3 – Эффект озона на показатели  $p50_{\text{реал}}$  (А) и  $p50_{\text{станд}}$  (Б) при разных концентрациях и времени инкубации**

Примечание – \* – достоверные изменения в сравнении с контролем, # – с группой образцов 2 мг/л озона, Ψ – с группой образцов 6 мг/л озона.

С увеличением концентрации  $O_3$  отмечается уменьшение СГК и, соответственно, большая степень сдвига КДО вправо (рисунок 2.4). В результате действия данного газа индуцируется каскад реакций, которые в конечном итоге способствуют высвобождению кислорода из оксигемоглобина за счёт образования 2,3-ДФГ [145]. Можно предположить, что отмечаемый положительный клинический эффект озонотерапии [27, с. 73–75] обусловлен выявленным нами сдвигом КДО вправо, улучшающим поток кислорода в ткани.



**Рисунок 2.4 – Эффект озонированного изотонического раствора на положение КДО при реальных значениях pH и pCO<sub>2</sub> при экспозиции 60 минут**

Примечание – ■ – контроль, ▲ – озон (2 мг/л), ◆ – озон (6 мг/л), □ – озон (10 мг/л).

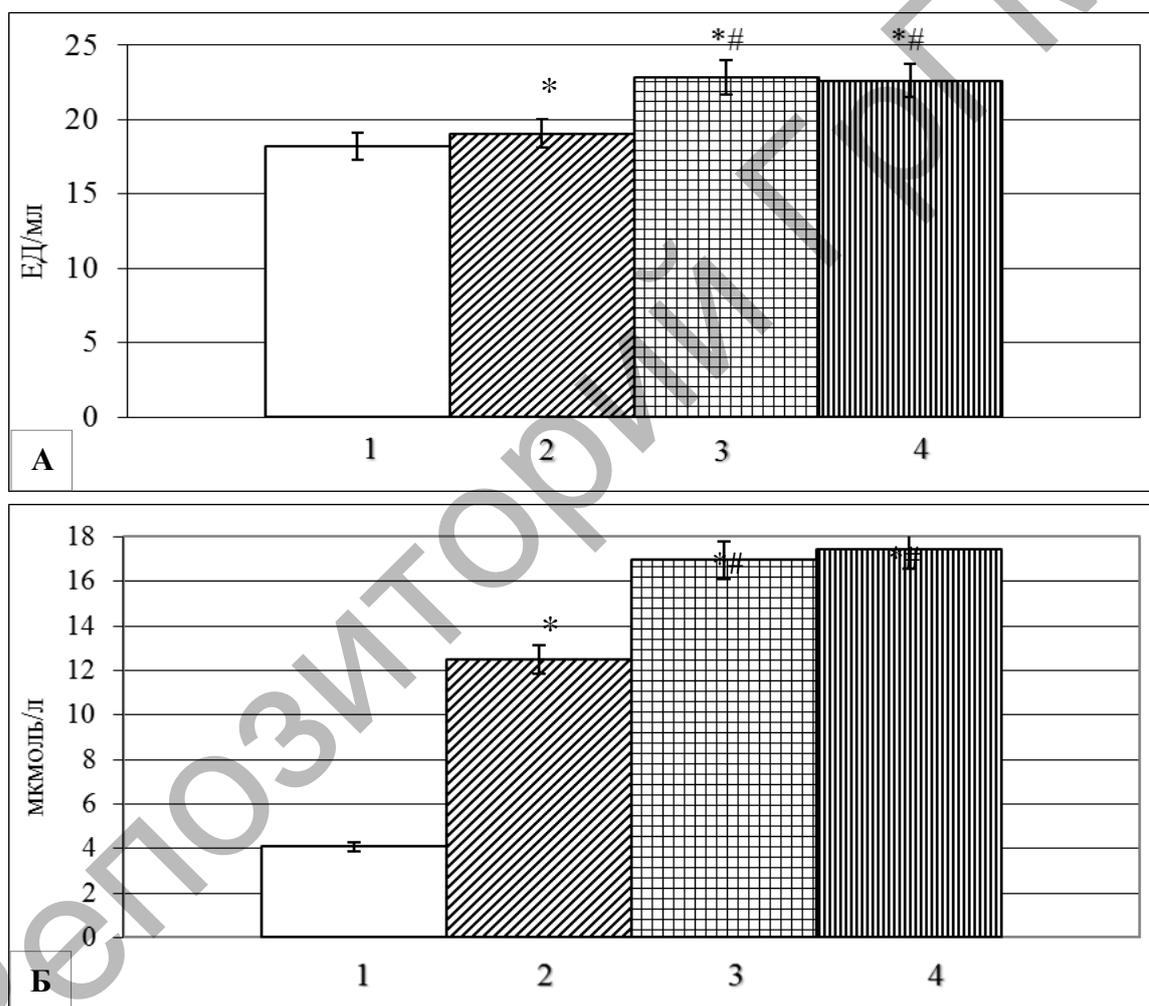
Таким образом, полученные результаты свидетельствуют об увеличении таких показателей кислородсвязывающих свойств крови, как p50, pO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, при добавлении озонированного изотонического раствора в группах экспериментальных образцов. При этом наблюдается дозозависимый эффект – увеличение данных параметров с ростом концентрации O<sub>3</sub> и, соответственно, более выраженный сдвиг КДО вправо.

## **2.2 Характеристика прооксидантно-антиоксидантного баланса крови и содержания в ней газотрансмиттеров при инкубации с озонированным изотоническим раствором натрия хлорида**

На следующем этапе исследования представляется важным оценить изменения параметров ПОЛ, АОС и концентраций газотрансмиттеров (NO, H<sub>2</sub>S), измеренных при времени экспозиции 60 минут. Содержание ДК в эритроцитарной массе возрастает

с 18,21 [16,77; 18,29] до 19,07 [17,8; 20,71] ( $p < 0,05$ ), до 22,84 [21,99; 24,21] ( $p < 0,05$ ), до 22,64 [21,05; 25,55] ( $p < 0,05$ ) ЕД/мл при концентрации  $O_3$  2 мг/л, 6 мг/л, 10 мг/л соответственно (рисунок 2.5 А).

Подобная тенденция наблюдается и в отношении уровней МДА в эритроцитарной массе, которые увеличиваются с 4,08 [3,41; 5,78] до 12,49 [12,09; 14,20] ( $p < 0,05$ ), до 16,96 [13,82; 18,42] ( $p < 0,05$ ), до 17,43 [13,93; 20,11] ( $p < 0,05$ ) мкмоль/л при концентрациях  $O_3$  2 мг/л, 6 мг/л, 10 мг/л соответственно (рисунок 2.5 Б).



**Рисунок 2.5 – Уровень диеновых конъюгатов (А) и малонового диальдегида (Б) в эритроцитарной массе при инкубации крови с озонированным изотоническим раствором**

Примечание – контроль – 1, концентрация озона: 2 мг/л – 2; 6 мг/л – 3; 10 мг/л – 4; \* – достоверные изменения в сравнении с контрольной группой; # – с группой 2 мг/л озона.

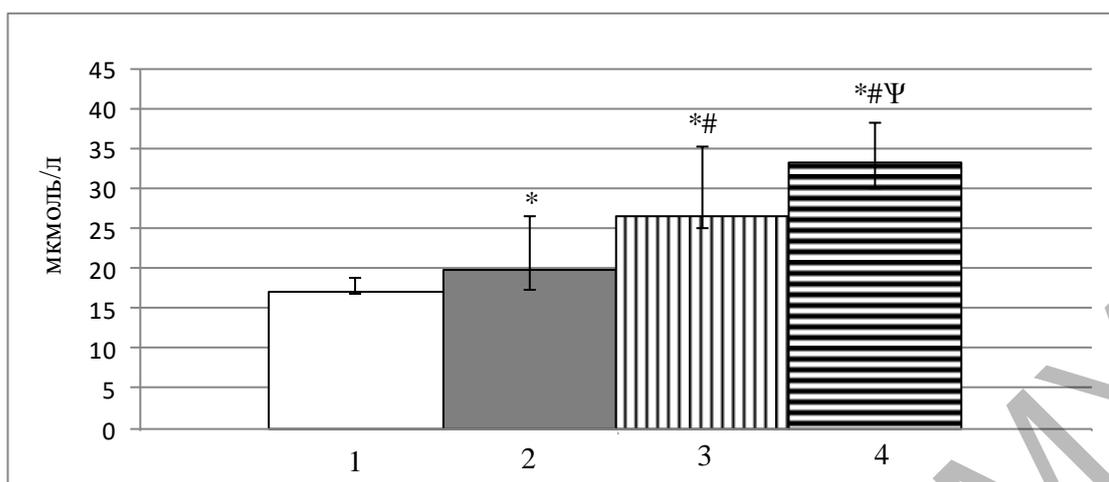
Показатели АОС представлены в таблице 2.2. Активность каталазы возрастает наиболее значительно в группах экспериментальных образцов с концентрациями  $O_3$  6 и 10 мг/л – на 22,8% ( $p < 0,05$ ) и на 30,1% ( $p < 0,05$ ) соответственно. Содержание  $\alpha$ -токоферола по сравнению с контролем увеличилось на 31,5% ( $p < 0,05$ ), на 67% ( $p < 0,05$ ) и на 52,8% ( $p < 0,05$ ) в группах экспериментальных образцов с концентрациями  $O_3$  2 мг/л, 6 мг/л, 10 мг/л соответственно. Также отмечается рост уровня ретинола на 17,3% ( $p < 0,05$ ) при концентрации  $O_3$  2 мг/л, на 28,4% ( $p < 0,05$ ) – при концентрациях 6 и 10 мг/л.

Таблица 2.2 – Эффект озона на показатели антиоксидантной защиты крови при экспозиции 60 мин (Me [25; 75])

Показатель	Контроль	Озон		
		2 мг/л	6 мг/л	10 мг/л
n	10	10	10	10
Эритроцитарная масса				
Каталаза, ммоль $H_2O_2$ /мин/г Нб	16,3 [15,37; 16,5]	18,2 [17,95; 18,67]*	20,0 [18,77; 21,34]*#	21,2 [20,73; 21,43]*#
Плазма крови				
Ретинол, мкмоль/л	0,81 [0,7; 0,87]	0,95 [0,82; 1,01]*	1,04 [0,97; 1,09]*#	1,05 [0,98; 1,11]*#
$\alpha$ -токоферол, мкмоль/л	8,9 [7,35; 10,44]	11,7 [9,55; 13,18]*	14,9 [12,65; 16,41]*#	13,6 [12,91; 14,2]*#

Примечание – \* – достоверные изменения в сравнении с контролем; # – с группой образцов озон 2 мг/л.

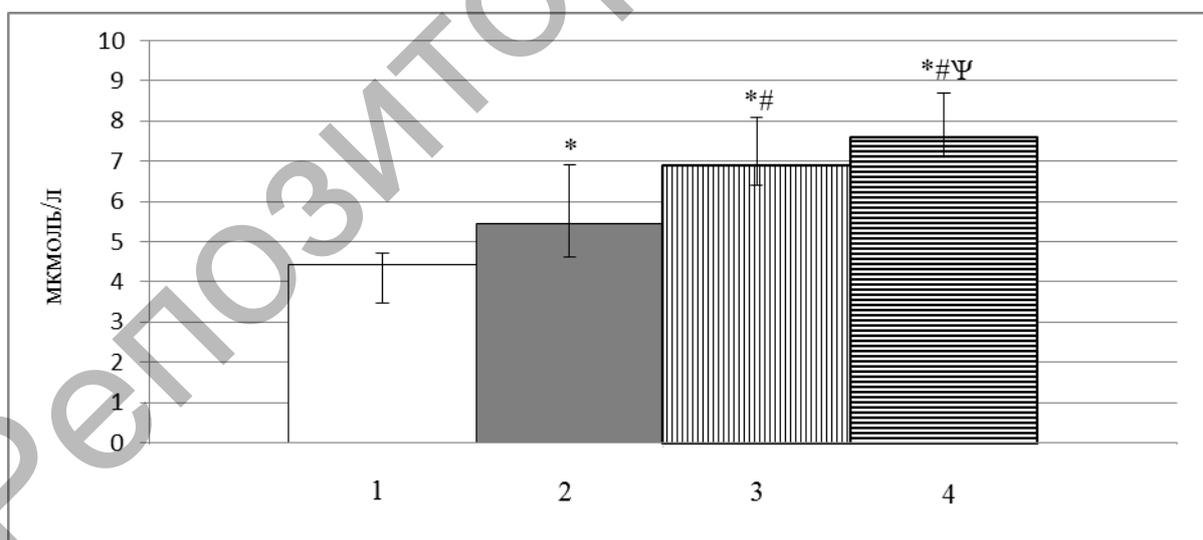
Суммарное содержание  $NO_3^-/NO_2^-$  в плазме крови в группах экспериментальных образцов с концентрацией  $O_3$  2 мг/л, 6 мг/л, 10 мг/л увеличивается до 19,76 [17,28; 26,51] ( $p < 0,05$ ), 26,43 [25,07; 35,35] ( $p < 0,05$ ), 33,12 [30,07; 38,14] ( $p < 0,05$ ) мкмоль/л соответственно в сравнении с контролем – 17,05 [16,77; 18,72] мкмоль/л (рисунок 2.6).



**Рисунок 2.6 – Концентрация нитрат/нитритов в плазме при инкубации крови с озонированным изотоническим раствором**

Примечание – контроль – 1, концентрация озона: 2 мг/л – 2; 6 мг/л – 3; 10 мг/л – 4; \* – достоверные изменения в сравнении с контролем; # – с группой 2 мг/л озона; Ψ – с группой 6 мг/л озона.

Уровень другого газотрансмиттера ( $H_2S$ ) также возрастает с 4,43 [3,46; 4,7] до 5,43 [4,62; 6,92] ( $p < 0,05$ ) мкмоль/л при концентрации 2 мг/л, до 6,89 [6,39; 8,08] ( $p < 0,05$ ) мкмоль/л – при концентрации 6 мг/л, до 7,58 [7,11; 8,7] ( $p < 0,05$ ) мкмоль/л – при концентрации 10 мг/л (рисунок 2.7).



**Рисунок 2.7 – Содержание сероводорода в плазме при инкубации крови с озонированным изотоническим раствором**

Примечание – контроль – 1, концентрация озона: 2 мг/л – 2; 6 мг/л – 3; 10 мг/л – 4; \* – достоверные изменения в сравнении с контролем, # – с группой 2 мг/л озона, Ψ – с группой 6 мг/л озона.

Предполагается, что оптимизация про- и антиоксидантных систем на фоне введения  $O_3$  происходит за счёт повышения активности антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы [146]. Взаимодействие  $NO$  и  $H_2S$  имеет значение для модификации СГК через образование различных дериватов гемоглобина (мет-, нитрозо-, нитрозил- и сульфгемоглобины), модулирование внутриэритроцитарной системы формирования кислородсвязывающих свойств крови, а также опосредовано через системные механизмы формирования функциональных свойств гемоглобина [147, с. 899].

Таким образом, результаты проведённых исследований демонстрируют дозозависимый эффект озона на кислородсвязывающие свойства крови и на содержание газотрансмиттеров  $NO_3^-/NO_2^-$  и  $H_2S$ . Наиболее выраженный рост параметров ПОЛ наблюдался при концентрации озона 6 мг/л и 10 мг/л, однако в данных группах отмечается увеличение показателей АОС.

Выявлено, что инкубация крови с озонированным физиологическим раствором в диапазоне концентраций от 2 до 10 мг/л при экспозиции 30 и 60 мин обуславливает изменения кислородсвязывающих свойств крови, проявляющиеся ростом  $pO_2$ ,  $SO_2$  и уменьшением СГК, выраженность которых усиливается с увеличением концентрации озона. Действие озона обуславливает изменения прооксидантно-антиоксидантного баланса крови, проявляющееся увеличением уровня ДК, МДА в эритроцитарной массе, а также ростом активности каталазы, концентраций ретинола и  $\alpha$ -токоферола. Внесение озона увеличивает содержание в плазме крови таких газотрансмиттеров, как  $NO$  и  $H_2S$ , что проявляется модуляцией кислородсвязывающих свойств крови.

## Глава 3

# КИСЛОРОДСВЯЗЫВАЮЩИЕ СВОЙСТВА КРОВИ И ЕЕ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТЫЙ БАЛАНС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ОЗОНОМ В УСЛОВИЯХ МОДУЛЯЦИИ СИНТЕЗА МОНООКСИДА АЗОТА И СЕРОВОДОРОДА

В клинической практике широко применяют методы терапии, основанные на использовании озона, который обладает широким спектром действия, в частности иммунокорректирующим, антигипоксическим и антиоксидантным эффектами [75]. Озон увеличивает содержание кислорода в артериальной и венозной крови, улучшает её реологические свойства [99, с. 4–5]. Монооксид азота через изменение различных механизмов формирования функционального статуса эритроцитов обеспечивает адаптацию организма к гипоксии [148, с. 622–623]. Инкубация суспензии эритроцитов с нитроглицерином (5 нг/мл) в Na-фосфатном буфере в течение 24 часов приводит к повышению СГК, что указывает на возможность влияния газотрансмиттера NO на данный параметр [149]. Также показано, что при инкубировании крови с S-нитрозоцистеином отмечается снижение  $p50_{\text{станд}}$  с 33,2 до 30,3 мм рт. ст. [150].

$H_2S$  представляет собой газообразную сигнальную молекулу, играющую важную роль во многих физиологических процессах и относящуюся, как монооксид азота и монооксид углерода, к группе сигнальных агентов, называемых газотрансмиттерами [151, с. 45855]. Данная молекула модулирует разнообразные физиологические функции как в экспериментальных, так и в естественных условиях. Этот газотрансмиттер может образовываться в ферментативных и в неферментативных реакциях. В ферментативной продукции  $H_2S$  в эритроцитах участвует 3-меркаптопируватсульфотрансфераза [152, с. 2]. Сероводород оказывает влияние на механизмы транспорта кислорода кровью,

в том числе и за счёт взаимодействия с NO. Кроме того, H<sub>2</sub>S участвует в регуляции окислительно-восстановительного баланса клетки. Снижение его синтеза сопровождается повышенным образованием АФК, ростом активности ПОЛ, а введение доноров H<sub>2</sub>S подавляет развитие окислительного стресса и активирует антиоксидантные ферменты, такие как супероксиддисмутаза, каталаза и глутатионпероксидаза [153, с. 2]. Однако участие NO и H<sub>2</sub>S в реализации эффектов озона на кислородсвязывающие свойства и прооксидантно-антиоксидантный баланс крови недостаточно изучено.

В данной главе представлены результаты, демонстрирующие изменения показателей кислородсвязывающих свойств крови, параметров прооксидантно-антиоксидантного баланса при модуляции NO и H<sub>2</sub>S воздействием озона. В условиях модуляции NO-генерирующих механизмов выполнено воздействие озоном на смешанную венозную кровь. Образцы крови были разделены на шесть групп экспериментальных образцов по 3 мл: к группе 1 (контрольной) добавляли 1,1 мл 0,9% раствора NaCl; к группе 2 – озонированный 0,9% раствор NaCl в объёме 1 мл и 0,1 мл 0,9% раствора NaCl; к группе 3 – озонированный 0,9% раствор NaCl в объёме 1 мл и 0,1 мл раствора, содержащего нитроглицерин (SchwarzPharma AG) в конечной концентрации 0,05 ммоль/л; к группе 4 – озонированный 0,9% раствор NaCl в объёме 1 мл и 0,1 мл раствора, содержащего L-аргинин (Sigma-Aldrich) в конечной концентрации 3 ммоль/л; к группе 5 – озонированный 0,9% раствор NaCl в объёме 1 мл и 0,1 мл раствора, содержащего L-NAME (Sigma-Aldrich) в конечной концентрации 1,25 ммоль/л; группе 6 – озонированный 0,9% раствор NaCl в объёме 1 мл и 0,1 мл раствора, содержащего комбинацию L-NAME и L-аргинина; после чего пробы перемешивались. Концентрация O<sub>3</sub> в 0,9% растворе NaCl составляла 6 мг/л.

Схема эксперимента представлена на рисунке 3.1.



**Рисунок 3.1 – Схема эксперимента по изучению действия озона в условиях модуляции NO-генерирующих механизмов**

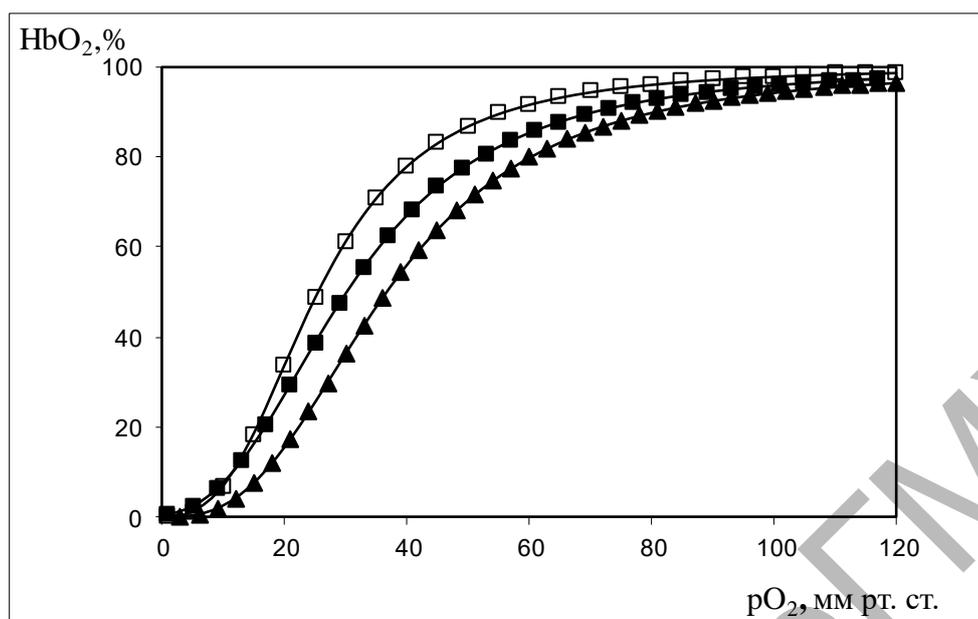
### **3.1 Действие озона на кислородсвязывающие свойства крови в условиях модификации NO-ергических процессов**

В текущем разделе представлены результаты, характеризующие изменения кислородсвязывающих свойств крови под воздействием озона в условиях воздействия на NO-генерирующую систему *in vitro*. Инкубация крови с озонированным изотоническим раствором натрия хлорида (6 мг/л, время экспозиции 60 мин) обуславливает изменение её кислородсвязывающих свойств (таблица 3.1), проявляющееся в росте таких показателей, как  $pO_2$  – на 21,5% ( $p < 0,05$ ),  $SO_2$  – на 6,9% ( $p < 0,05$ ), в сравнении с контролем. Показатель СГК  $p50_{\text{реал}}$  под воздействием озона возрастает на 15,4% ( $p < 0,05$ ), что свидетельствует о сдвиге КДО вправо (рисунок 3.2). Схожая динамика изменений была и по показателю  $p50_{\text{станд}}$ . Также в этой группе экспериментальных образцов наблюдается сдвиг реакции крови в щелочную сторону, что подтверждается ростом значения  $pH$  по сравнению с контролем.

Таблица 3.1 – Эффект озона на кислородсвязывающие свойства крови в условиях увеличения генерации NO (Me [25; 75])

Показатель	Контроль	Озон	Озон + нитроглицерин	Озон + L-аргинин	Озон + L-NAME	Озон + L-NAME + L-аргинин
n	10	10	10	10	10	10
SO <sub>2</sub> , %	31,6 [26,3; 32,2]	33,8 [32,4; 34,7] *	38,6 [33,9; 41,8]*#	31,6 [31; 33,8]	30,5 [27,9; 30,9]#	32,6 [31,1; 33,4]
pO <sub>2</sub> , мм рт. ст.	19,5 [17,8; 19,6]	23,7 [22,3; 24,6]*	29,5 [26,8; 30,1]*#	21,7 [20,7; 21,9]*#	21,9 [21,8; 22,4]*	21,4 [20,9; 21,8]*#
pH, ед.	7,412 [7,410; 7,413]	7,432 [7,428; 7,437]*	7,441 [7,439; 7,467]*	7,436 [7,406; 7,478]*	7,411 [7,401; 7,431]	7,446 [7,432; 7,469]*
pCO <sub>2</sub> , мм рт. ст.	34,3 [32,8; 35,7]	28,3 [27,9; 30,1]*	29,5 [24; 30,8]*	26,2 [22,3; 32,3]	31,2 [30,5; 32,5]*	28,3 [26,2; 32]*
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , ммоль/л	21,8 [21; 22,5]	19,9 [19,1; 20,3]*	19,6 [17,6; 20,2]*	20,5 [19,2; 20,6]	19,9 [19,5; 20,5]*	20,2 [19,5; 21,1]
TCO <sub>2</sub> , ммоль/л	22,9 [22; 23,6]	20,8 [20; 21,7]*	20,7 [18,4; 21,1]*	21,3 [20,1; 21,6]	20,8 [20,6; 21,5]*	21 [20,3; 22,1]
ABE, ммоль/л	-3,3 [-3,9; -2,5]	-4,7 [-5,4; -4,1]*	-5,7 [-6,5; -4,1]*	-4,05 [-4,6; -2,1]	-4,9 [-5,6; -4,3]	-3,7 [-4,4; -2,8]
SBE, ммоль/л	-1,9 [-2,5; -1,3]	-3,2 [-3,9; -2,7]*	-3,8 [-4,6; -2,7]*	-2,7 [-3,13; -0,6]	-3,4 [-4,1; -2,9]	-2,1 [-2,9; -1,4]
SBC, ммоль/л	21,9 [21,3; 22,3]	20,9 [20,4; 21,4]	20,5 [19,8; 21,3]	21,4 [20,9; 23,1]	20,8 [20,3; 21,2]	21,9 [21,2; 22,4]
p50 <sub>реал</sub> , мм рт. ст.	26,7 [26,5; 26,9]	30,8 [29,3; 32,8]*	35,1 [34,3; 36,2]*#	28,3 [27,4; 29,2]*#	29,5 [26,5; 30,3]	28,7 [28,2; 29,1]*#
p50 <sub>станд</sub> , мм рт. ст.	26,6 [26,4; 26,7]	31,8 [29,7; 33,8]*	36,5 [35,5; 36,9]*#	30,3 [28,6; 32,7]*	29,9 [26,5; 30,9]	29,4 [28,5; 30,7]*

Примечание – \* – достоверные изменения в сравнении с контролем; # – с группой образцов озон.



**Рисунок 3.2 – Эффект озона на положение кривой диссоциации оксигемоглобина при реальных значениях рН и рСО<sub>2</sub> в условиях увеличения генерации NO**

Примечание – □ – контроль; ■ – озон; ▲ – озон + нитроглицерин.

Добавление донора NO нитроглицерина приводит к усилению отмечается увеличение pO<sub>2</sub> на 24,5% (p<0,05), SO<sub>2</sub> – на 14,2% (p<0,05), показателя p50<sub>реал</sub> – на 13,9% (p<0,05) и, соответственно, большая степень сдвига КДО вправо (рисунок 3.2) по сравнению с группой экспериментальных образцов, в которую вносили только озон. При добавлении L-аргинина, L-NAME и их комбинации изменений данных параметров и кислотно-основного состояния крови (pCO<sub>2</sub>, SBC, ABE/SBE, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, pH, TCO<sub>2</sub>) не наблюдается.

В работах некоторых исследователей отмечается, что введение озонированного изотонического раствора на различных экспериментальных моделях приводит к увеличению показателей кислородсвязывающих свойств крови [154, 142]. Согласно результатам, полученным В. Clavo et al., в данном эффекте озона имеет значение рост концентрации 2,3-ДФГ в эритроцитах и увеличение образования монооксида азота [155, с. 4].

Таким образом, результаты нашего исследования демонстрируют, что нитроглицерин как непосредственный донор NO усиливает эффект O<sub>3</sub> на кислородсвязывающие свойства крови. Введения предшественника синтеза NO (L-аргинина) и ингибитора синтеза NO (L-NAME) подобного действия не оказывают.

### **3.2 Показатели прооксидантно-антиоксидантного баланса крови и содержания монооксида азота, сероводорода при инкубации с озонированным изотоническим раствором натрия хлорида в условиях модуляции синтеза монооксида азота**

На данном этапе эксперимента получены сведения о характере изменения активности процессов ПОЛ и состояния системы антиоксидантной защиты в условиях влияния на NO-ергические процессы. Инкубация крови с озонированным изотоническим раствором натрия хлорида приводит к увеличению содержания ДК, МДА и активности каталазы в эритроцитах (таблица 3.2).

В условиях воздействия на NO-генерирующую систему показатели ПОЛ (МДА, ДК) существенно не изменяются. При добавлении нитроглицерина и L-аргинина в присутствии озона отмечается повышение концентраций ретинола и  $\alpha$ -токоферола в сравнении с контролем, в остальных группах подобная тенденция не прослеживается.

Доноры монооксида азота *in vitro* активируют систему антиоксидантной защиты [156, с. 348]. Наблюдается повышение концентрации ретинола и  $\alpha$ -токоферола при добавлении нитроглицерина и L-аргинина в присутствии озона, возможно, за счёт их высвобождения из эритроцитарной мембраны вследствие её окислительного повреждения, в частности под действием пероксинитрита [157]. Эффект L-NAME и его комбинации с L-аргином на параметры прооксидантно-антиоксидантного баланса не отмечается.

Физиологическая активность  $O_3$  в организме – результат изменения свободно-радикального статуса в ответ на поступление активных кислородных и озоновых метаболитов от внешнего источника [35]. Установлено, что внутривенное введение озонированного изотонического раствора натрия хлорида объёмом 400 мл с концентрацией  $O_3$  400, 800, 1200 мкг/л беременным женщинам с угрозой выкидыша вызывает рост первичных и конечных продуктов ПОЛ: так, уровень ДК в крови возрастает в 2,4 раза в сравнении с контрольной группой [158].

Таблица 3.2 – Эффект озона на показатели прооксидантно-антиоксидантного баланса крови в условиях увеличения генерации NO (Me [25; 75])

Показатель	Контроль	Озон	Озон + нитроглицерин	Озон + L-аргинин	Озон + L-NAME	Озон + L-NAME + L-аргинин
n	10	10	10	10	10	10
Эритроцитарная масса						
Малоновый диальдегид, мкмоль/л	4,8 [4,25; 5,77]	15,7 [14,8; 15,78]*	12,6 [10,48; 15,87]*	14,3 [13,43; 15,57]*	14,7 [13,63; 15,27]*	15,5 [14,14; 16,92]*
Диеновые конъюгаты, ЕД/мл	18,1 [17,34; 18,56]	22,3 [19,37; 23,47]*	20,6 [20,31; 21,45]*	22,4 [21,83; 24,31]*	22,4 [18,73; 24,17]*	22,1 [19,68; 22,81]*
Каталаза, ммоль H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /мин/г Нб	10,5 [10,25; 10,88]	14,9 [14,18; 16,57]*	16,1 [15,93; 16,77]*	14,3 [13,72; 15,92]*	12,7 [11,81; 13,51]*#	12,3 [11,02; 12,85]#
Плазма крови						
Ретинол, мкмоль/л	0,85 [0,81; 0,87]	0,93 [0,87; 0,96]	1,1 [1,08; 1,17]*	1,0 [0,96; 1,14]*	0,88 [0,85; 1,02]	0,95 [0,78; 1,04]
α-токоферол, мкмоль/л	8,3 [8,02; 8,44]	13,6 [11,18; 14,76]	19,1 [17,36; 20,96]*	16,6 [15,00; 19,49]*	11,8 [10,48; 13,06]	12,0 [9,62; 13,56]

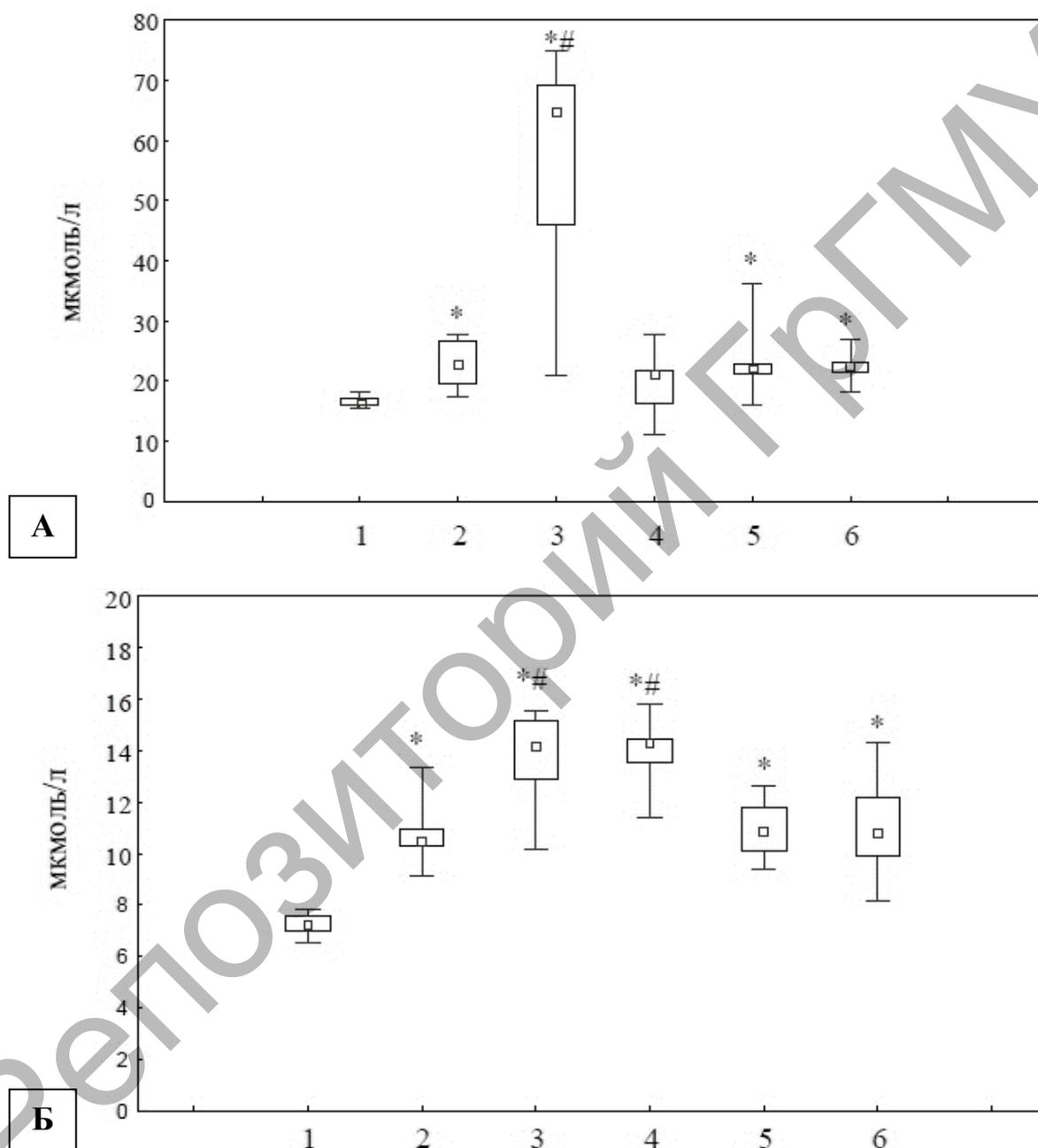
Примечание — \* — достоверные изменения в сравнении с контролем; # — с группой образцов озон.

Содержание  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  в плазме крови под действием  $\text{O}_3$  возрастает на 39,2% ( $p < 0,05$ ) (рисунок 3.3А). При добавлении нитроглицерина в этих условиях концентрация  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  существенно увеличивается – на 183,5% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с группой экспериментальных образцов, в которую вводили только озон. Уровень газотрансмиттера  $\text{H}_2\text{S}$  под действием озона возрастает на 44,8% ( $p < 0,05$ ) (рисунок 3.3Б). При добавлении нитроглицерина или L-аргинина этот показатель также повышается – на 35,3% и на 41,6%, ( $p < 0,05$ ) соответственно; добавление L-NAME или его комбинации с L-аргинином в условиях действия озона не вызывает увеличения содержания  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  и  $\text{H}_2\text{S}$  по сравнению с группой экспериментальных образцов, в которую вводили только озон.

Добавление L-аргинина (исходного субстрата синтеза NO) не оказывает аналогичного влияния. Данный факт, вероятно, обусловлен тем, что механизмы синтеза NO не успевают реализоваться за время проводимого эксперимента (60 мин). Монооксид азота наряду с pH и 2,3-ДФГ может быть модулятором кислородсвязывающих свойств гемоглобина и изменять СГК через NO-зависимые внутриэритроцитарные механизмы [159].

Повышение уровня сероводорода при добавлении нитроглицерина и L-аргинина в условиях действия озона (донора кислорода) связано с тем, что образующиеся в следствие реакции NO с кислородом оксиды ( $\text{NO}_2$  и  $\text{N}_2\text{O}_3$ ) [160, с. 12] могут взаимодействовать с гемоглобином и основаниями Шиффа с образованием нитрованных аминокислот, в частности метионина [161, с. 541; 162, с. 314], из которого посредством реакции транссульфурирования в эритроцитах образуется L-цистеин – предшественник синтеза  $\text{H}_2\text{S}$  [163, с. 6]. Следствие данной реакции – увеличение концентрации  $\text{H}_2\text{S}$ . При действии озон-кислородной смесью с концентрацией  $\text{O}_3$  10–100 мкг/л на кровь собак в опытах *in vitro* установлено, что минимальные концентрации  $\text{O}_3$  (10 мкг/л и 20 мкг/л) не вызывают сдвига липопероксидации относительно исходного равновесного состояния, а при более высоких дозах  $\text{O}_3$  (начиная с концентрации 50 мкг/л) интенсивность образования конечных продуктов ПОЛ нарастает [142]. Введение крысам после кровопотери отмытых эритроцитов (0,5 мл) и озонированного изотонического

0,9% раствора NaCl (2 мл с концентрацией  $O_3$  2 мг/л) приводит к увеличению содержания МДА на 15% по сравнению с контролем, в тканях и органах наблюдается повышение активности антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионпероксидазы [143].



**Рисунок 3.3 – Концентрация нитрат/нитритов (А) и сероводорода (Б) в плазме крови в условиях увеличения генерации NO**

Примечание – контроль – 1; озон – 2; озон + нитроглицерин – 3; озон + L-аргинин – 4; озон + L-NAME – 5; озон + L-NAME + L-аргинин – 6; \* – достоверные изменения в сравнении с контрольной группой, # – с группой озон.

Таким образом, нитроглицерин и L-аргинин способствуют активации системы антиоксидантной защиты, однако при этом не наблюдается снижения параметров ПОЛ, что свидетельствует о сохранении окислительного стресса, вызванного введением озона. Стоит отметить рост  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  и  $\text{H}_2\text{S}$  в плазме крови при внесении донора NO.

### **3.3 Изменение параметров транспорта кислорода кровью в условиях модуляции синтеза сероводорода**

В данной серии эксперименты были проведены в условиях модуляции синтеза сероводорода. Образцы крови разделили на пять групп экспериментальных образцов по 3 мл: к группе 1 (контрольной) добавляли 1,1 мл 0,9% раствора NaCl; группе 2 – озонированный 0,9% раствор NaCl в объеме 1 мл и 0,1 мл 0,9% раствора NaCl; группе 3 – озонированный 0,9% раствор NaCl в объеме 1 мл и 0,1 мл раствора, содержащего NaHS (Sigma-Aldrich) в конечной концентрации 0,38 ммоль/л; группе 4 – озонированный 0,9% раствор NaCl в объеме 1 мл и 0,1 мл раствора, содержащего комбинацию нитроглицерина (Schwarz Pharma AG) в конечной концентрации 0,05 ммоль/л, и NaHS в конечной концентрации 0,38 ммоль/л; группе 5 – озонированный 0,9% раствор NaCl в объеме 1 мл и 0,1 мл раствора, содержащего необратимый ингибитор фермента CSE, PAG (Chem-Impex International) в конечной концентрации 0,73 ммоль/л; после чего пробы перемешивались. Концентрация  $\text{O}_3$  в 0,9% растворе NaCl составляла 6 мг/л.

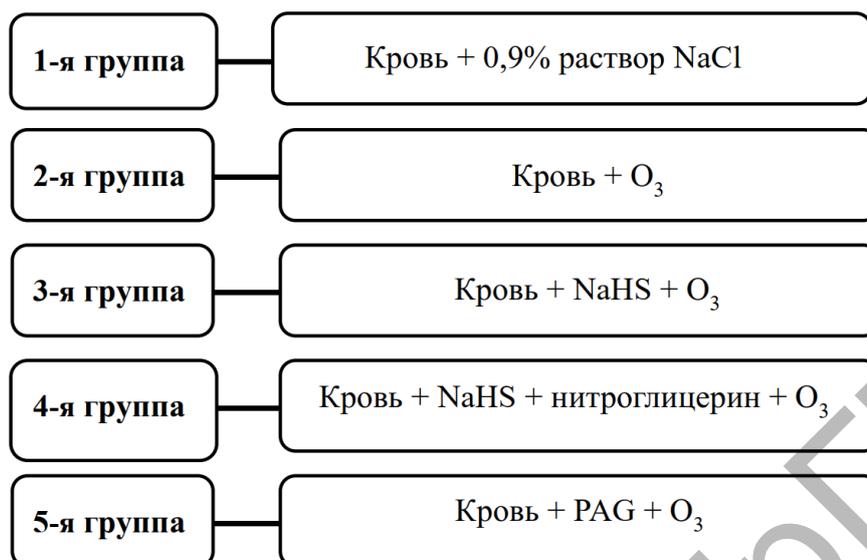
В данной части исследования приводятся результаты, характеризующие изменения параметров транспорта кислорода в условиях влияния на механизмы синтеза сероводорода. Инкубация крови с озонированным изотоническим раствором натрия хлорида увеличивает основные показатели кислородсвязывающих свойств крови (таблица 3.3) и сопровождается сдвигом КДО вправо.

Таблица 3.3 – Кислородсвязывающие свойства крови в условиях модификации синтеза сероводорода (Me [25; 75])

Показатель	Контроль	Озон	Озон + NaHS	Озон + PAG	Озон + NaHS + нитроглицерин
n	10	10	10	10	10
SO <sub>2</sub> , %	29,8 [29,38; 31,18]	38,7 [36,8; 44,23] *	37,3 [35,08; 42,8]*	30,7 [26,73; 33,78]Ω#	44,8 [44,1; 46,2]*Ω#Ψ
pO <sub>2</sub> , мм рт. ст.	19,7 [19,43; 19,98]	27,3 [26,23; 27,78]*	27,8 [24,5; 33,3]*	20,3 [20,1; 21,88]*Ω#	31,5 [30,93; 31,58]*ΩΨ
pH, ед.	7,374 [7,372; 7,377]	7,414 [7,403; 7,435]*	7,375 [7,371; 7,382]Ω	7,381 [7,352; 7,411]Ω	7,413 [7,395; 7,422]*#Ψ
pCO <sub>2</sub> , мм рт. ст.	39,6 [39,4; 39,88]	34,3 [30,43; 35,9]*	36,8 [34,15; 37,48]*Ω	39,2 [37,78; 40,83]Ω	33,4 [31,05; 35,18]*#Ψ
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , ммоль/л	23,6 [23,4; 23,78]	22,4 [20,88; 22,98]*	22,1 [22,0; 23,38]	23,7 [22,63; 23,95]	20,5 [20,0; 21,38]*ΩΨ
TCO <sub>2</sub> , ммоль/л	24,9 [24,63; 24,98]	23,5 [21,9; 24,08]*	23,2 [23,1; 24,58]	24,8 [23,83; 25,05]	21,7 [21,15; 22,58]*#Ψ
ABE, ммоль/л	-1,7 [-1,8; -1,63]	-2,2 [-4,08; -1,23]	-2,7 [-3,38; -1,88]*	-1,5 [-3,08; -1,03]	-4,1 [-4,6; -3,28]*Ω# Ψ
SBE, ммоль/л	-0,7 [-0,8; -0,7]	-1,0 [-2,55; -0,08]	-1,8 [-2,1; -0,93]*	-0,7 [-1,88; 0,1]	-2,5 [-3,33; -1,78]*Ω Ψ
SBC, ммоль/л	22,9 [22,8; 22,98]	22,9 [21,45; 23,58]	22,1 [21,7; 22,73]*	22,9 [21,73; 23,58]	21,4 [20,78; 21,98]*Ω Ψ
p50 реал, мм рт. ст.	27,6 [27,58; 27,68]	32,2 [31,58; 32,92]*	30,4 [29,54; 31,65]*	27,8 [26,78; 28,34]Ω#	41,1 [36,80; 43,7]*Ω# Ψ
p50 станд, мм рт. ст.	26,8 [26,71; 26,82]	32,5 [31,25; 34,18]*	31,5 [29,2; 36,5]*	26,7 [26,5; 26,78]Ω#	40,7 [36,5; 43,1]*Ω#Ψ

Примечание – \* – достоверные изменения в сравнении с контролем; Ω – с группой образцов озон; # – с группой образцов озон + NaHS; Ψ – с группой образцов озон + PAG.

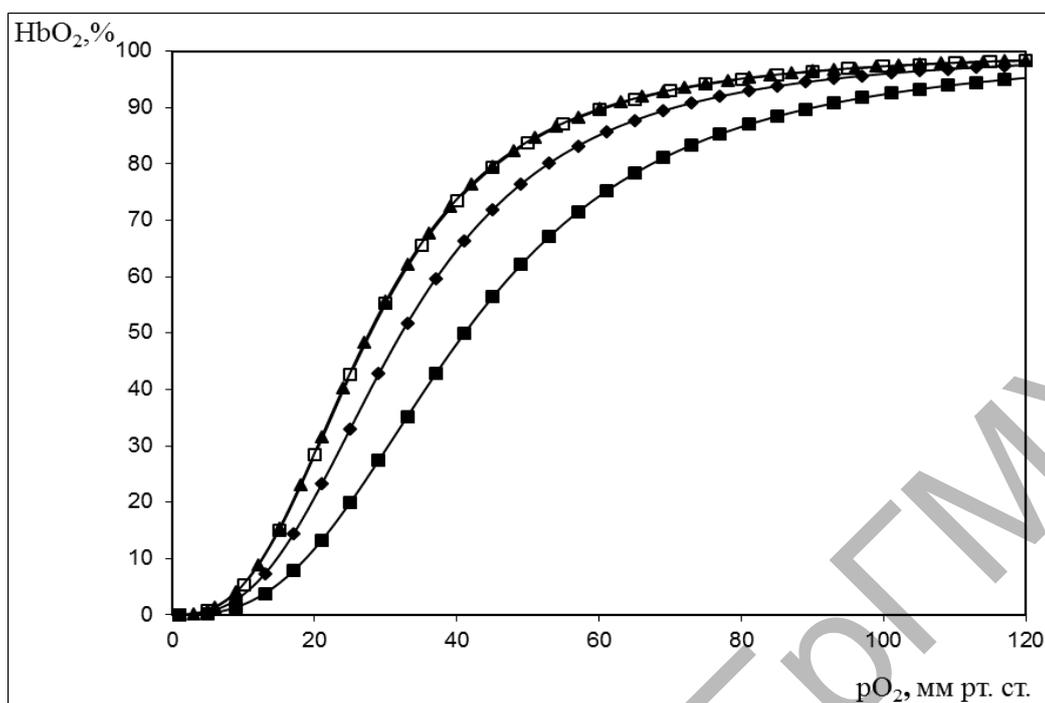
Схема эксперимента изображена на рисунке 3.4.



**Рисунок 3.4 – Схема эксперимента по изучению эффекта озона в условиях воздействия на механизмы синтеза сероводорода**

Введение ингибитора синтеза сероводорода PAG при добавлении O<sub>3</sub> приводит к уменьшению pO<sub>2</sub> на 25,8% (p<0,05), SO<sub>2</sub> на 20,6% (p<0,05) по сравнению группой экспериментальных образцов, в которую вводили только озон. Показатель СГК p50<sub>реал</sub> при этом уменьшается на 13,6% (p<0,05), КДО смещается влево (рисунок 3.5). При добавлении в кровь NaHS и O<sub>3</sub> не наблюдается усиления эффекта данного газа на параметры кислородсвязывающих свойств крови. Введение комбинации нитроглицерина и NaHS приводит к увеличению pO<sub>2</sub> на 15,2% (p<0,05), SO<sub>2</sub> на 15,9% (p<0,05) по сравнению группой экспериментальных образцов, в которую вводили только озон. При этом показатель p50<sub>реал</sub> возрастает на 27,6% (p<0,05) и, соответственно, КДО сдвигается вправо (рисунок 3.5). Также наблюдается увеличение p50<sub>станд</sub> на 25,1% (p<0,05). Значимых изменений параметров кислотно-основного состояния не отмечается.

Имеющихся в естественных условиях количеств сероводорода, вероятно, достаточно для реализации эффекта озона на кислородсвязывающие свойства крови. В связи с чем добавление донора сероводорода не меняет кислородсвязывающих свойств крови, а ингибитор сероводорода увеличивает СГК.



**Рисунок 3.5 – Эффект озона на положение кривой диссоциации оксигемоглобина при реальных значениях pH и pCO<sub>2</sub> в условиях влияния на механизмы синтеза сероводорода**

Примечание – ▲ – контроль; ◆ – озон, □ – пропаргилглицин + озон; ■ – натрия гидросульфид + озон + нитроглицерин.

Таким образом, результаты исследования показывают, что только добавление комбинации нитроглицерина и натрия гидросульфида приводит к росту параметров транспорта кислорода и способствует сдвигу КДО вправо.

### **3.4 Эффект сероводорода на показатели прооксидантно-антиоксидантного баланса крови и газотрансмиттеров в условиях добавления озона**

Данный этап исследования демонстрирует изменения показателей ПОЛ, состояния системы антиоксидантной защиты и газотрансмиттеров в условиях влияния на механизмы синтеза сероводорода. Добавление озона в исследуемую кровь приводит к росту активности продуктов ПОЛ в эритроцитарной массе: МДА – на 30,9% (p<0,05), ДК – на 240,8% (p<0,05) (таблица 3.4).

Таблица 3.4 – Параметры прооксидантно-антиоксидантного баланса в условиях модификации синтеза сероводорода (Me [25; 75])

Показатель	Контроль	Озон	Озон + NaHS	Озон + PAG	Озон + NaHS + нитроглицерин
n	10	10	10	10	10
Эритроцитарная масса					
Малоновый диальдегид, мкмоль/л	18,1 [16,68; 19,1]	23,7 [21,17; 26,5]*	23,8 [19,56; 27,83]*	22,8 [18,96; 26,98]*	21,9 [20,69; 26,43]*
Диеновые конъюгаты, ЕД/мл	4,9 [4,54; 5,72]	16,7 [16,1; 17,95]*	16,8 [15,15; 17,63]*	16,3 [12,4; 16,68]*	16,5 [14,99; 17,42]*
Каталаза, ммоль H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /мин/г Нь	10,9 [10,3; 11,72]	14,7 [14,21; 15,33]*	18,7 [18,5; 19,11]*Ω	14,1 [12,28; 17,8]*#	18,2 [18,1; 18,29]*Ω# Ψ
Плазма крови					
Ретинол, мкмоль/л	0,83 [0,81; 0,84]	0,95 [0,91; 0,97]*	0,97 [0,96; 1,04]*	0,95 [0,94; 0,97]*	0,98 [0,94; 1,07]*
α-токоферол, мкмоль/л	8,7 [8,52; 8,92]	12,73 [12,25; 14,91]*	12,6 [11,49; 12,67]*	12,4 [11,94; 13,76]*	12,23 [12,16; 13,23]*

Примечание – \* – достоверные изменения в сравнении с контролем; Ω – с группой образцов озон; # – с группой образцов озон + NaHS; Ψ – с группой образцов озон + PAG.

Пропаргилглицин снижает уровни метаболитов NO и H<sub>2</sub>S на 49% (p<0,05) и 17,7% (p<0,05) соответственно по сравнению с группой экспериментальных образцов, в которую вводили только озон (таблица 3.5). При добавлении натрия гидросульфида в этих условиях концентрация нитрат/нитритов увеличивается на 63,8% (p<0,05); комбинация нитроглицерина и NaHS существенно повышает данный параметр на 139,2% (p<0,05) по сравнению с группой экспериментальных образцов, в которую вводили только озон. Уровень газотрансммиттера H<sub>2</sub>S под действием озона возрастает на 50% (p<0,05) в сравнении с контролем. Добавление NaHS увеличивает данный параметр на 64,5% (p<0,05), тогда как комбинация нитроглицерина и NaHS приводит к росту данного показателя на 113,3% (p<0,05) по сравнению с группой экспериментальных образцов, в которую вводили только озон.

Таблица 3.5 – Концентрация нитрат/нитритов и сероводорода в плазме крови под действием озона в условиях модификации синтеза сероводорода (Me [25; 75])

Показатель	Контроль	Озон	Озон + NaHS	Озон + PAG	Озон + NaHS + нитроглицерин
n	10	10	10	10	10
Нитрат/нитриты, мкмоль/л	16,2 [15,42; 16,81]	22,9 [22,21; 24,05]*	37,5 [34,92; 39,15]*Ω	11,6 [10,89; 12,17]*Ω#	54,9 [53,47; 56,49]*Ω#Ψ
Сероводород, мкмоль/л	7,5 [7,19; 8,93]	11,3 [7,29; 12,44]	18,6 [15,59; 19,28]*Ω	9,3 [7,46; 11,52]#	24,1 [22,74; 25,35]*Ω#Ψ

Примечание – \* – достоверные изменения в сравнении с контролем; Ω – с группой образцов озон; # – с группой образцов озон + NaHS; Ψ – с группой образцов озон + PAG.

Полученные данные свидетельствуют о сложном, неоднозначном вкладе сероводорода в эффект озона на кислородсвязывающие свойства крови и её прооксидантно-антиоксидантный баланс. Газотрансммиттер сероводород может проявлять восстановительные свойства через разные механизмы. H<sub>2</sub>S преобразовывает липопротеины низкой плотности в липоспирты и ингибирует окисление гемоглобина, предотвращает

рост процессов свободнорадикального окисления липидов. Возможно, данный газ снижает высвобождение АФК за счет стимуляции интерлейкина-6 [153, с. 4].

Таким образом, добавление PAG, NaHS и нитроглицерина в экспериментальные образцы не приводит к значимым изменениям параметров ПОЛ (МДА, ДК), однако в группах с NaHS и нитроглицерином отмечается рост активности каталазы. Введение доноров газотрансмиттеров способствует увеличению уровней нитрат/нитритов и эндогенного H<sub>2</sub>S в плазме крови.

### **3.5 Влияние озона на кислородсвязывающие свойства и параметры прооксидантно-антиоксидантного баланса эритроцитарной суспензии**

С целью исследования механизмов действия озона на данном этапе была выбрана эритроцитарная суспензия. Образцы крови центрифугировались при 3000 об/мин в течение 10 мин для разделения плазмы и эритроцитов, затем дважды промывались охлаждённым 0,9% раствором NaCl, далее полученную эритроцитарную суспензию разделяли на четыре группы по 1,2 мл (гематокрит был стандартизирован до 40%).

К эритроцитарной суспензии добавляли: группа 1 (контрольная) – 1,1 мл 0,9% раствора NaCl; группа 2 – озонированный 0,9% раствор NaCl в объёме 1 мл и 0,1 мл 0,9% раствора NaCl; группа 3 – озонированный 0,9% раствор NaCl в объёме 1 мл и 0,1 мл раствора, содержащего нитроглицерин в конечной концентрации 0,05 ммоль/л; группа 4 – озонированный 0,9% раствор NaCl в объёме 1 мл и 0,1 мл раствора, содержащего NaHS в конечной концентрации 0,38 ммоль/л; после чего пробы перемешивались. Концентрация O<sub>3</sub> в 0,9% растворе NaCl составляла 6 мг/л.

Общая схема эксперимента представлена на рисунке 3.6. В данной серии осуществлялось воздействие озоном на эритроцитарную суспензию с добавлением доноров газотрансмиттеров.



**Рисунок 3.6 – Схема эксперимента по изучению влияния озона на эритроцитарную суспензию**

Введение O<sub>3</sub> в эритроцитарную суспензию вызывает рост основных показателей кислородсвязывающих свойств: SO<sub>2</sub> – на 122,3% (p<0,05), pO<sub>2</sub> – на 73,6% (p<0,05) (таблица 3.6). В этих условиях отмечается увеличение параметра СГК p50<sub>реал</sub> на 21,4% (p<0,05) и смещение КДО вправо в сравнении с контролем (рисунок 3.7). Также наблюдается рост показателя p50<sub>станд.</sub> При анализе параметров кислотно-основного баланса значимых изменений не выявлено. Внесение нитроглицерина усиливает эффект O<sub>3</sub> на кислородсвязывающие свойства суспензии эритроцитов в заданных условиях. Показатели кислородсвязывающих свойств SO<sub>2</sub> и pO<sub>2</sub> увеличиваются на 12,5% (p<0,05) и 21% (p<0,05) соответственно по отношению к группе экспериментальных образцов, в которую добавляли озон. В условиях добавления нитроглицерина показатель СГК p50<sub>реал</sub> возрастает на 7,5% (p<0,05) и происходит более выраженный сдвиг КДО вправо (рисунок 3.7). Донор H<sub>2</sub>S (NaHS) не оказывает подобного эффекта.

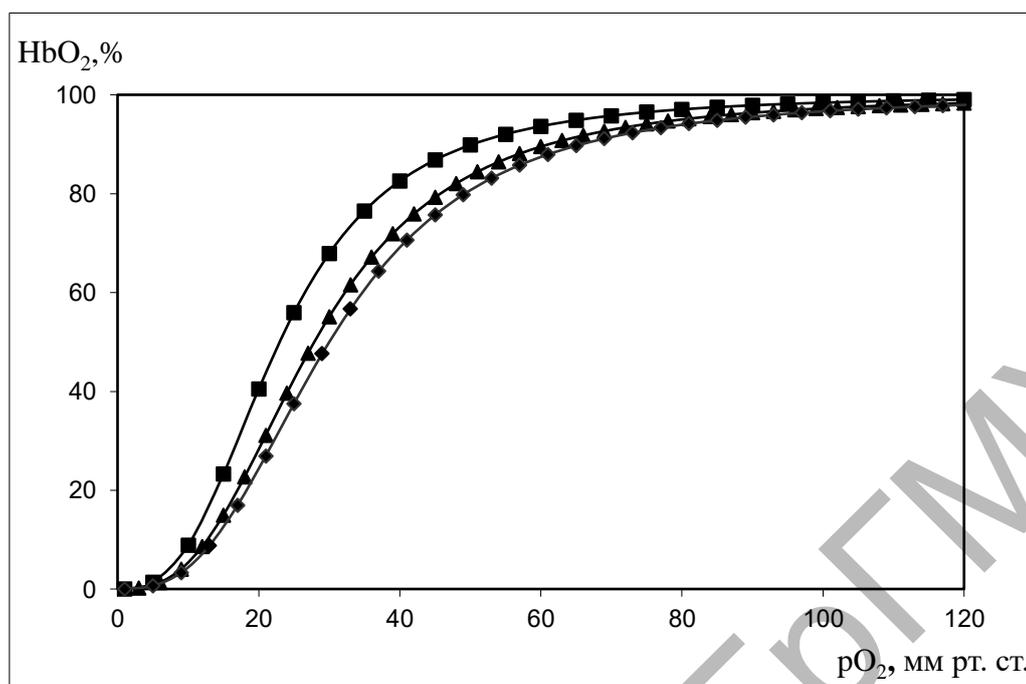
Эритроциты являются важной мишенью для действия озона в сравнении с другими форменными элементами. Одним из механизмов эффекта данного газа на кислородсвязывающие свойства суспензии эритроцитов может быть влияние O<sub>3</sub> на гексозомонофосфатный шунт, который способствует активации 2,3-ДФГ-мутаза, что в конечном итоге приводит к сдвигу КДО

вправо [164, с. 1068]. На наш взгляд, кроме данного механизма могут работать и другие, опосредованные газотрансмиттерами механизмы, в частности NO, что подтверждается изменением СГК при добавлении O<sub>3</sub> и нитроглицерина.

Таблица 3.6 – Эффект озона на кислородсвязывающие свойства суспензии эритроцитов (Me [25; 75])

Показатель	Контроль	Озон + эритроцитарная суспензия	Озон + эритроцитарная суспензия + нитроглицерин	Озон + эритроцитарная суспензия + NaHS
n	10	10	10	10
SO <sub>2</sub> , %	26,9 [26,0; 32,1]	59,8 [56,3; 62,2]*	67,3 [62,7; 67,7]*#	58,1 [57,9; 58,7]*Ψ
pO <sub>2</sub> , мм рт. ст.	18,2 [17,4; 19,6]	31,6 [30,1; 34,5]*	38,3 [37,4; 39,2]*#	31,1 [28,7; 31,3]*Ψ
pH, ед.	7,305 [7,287; 7,356]	7,331 [7,321; 7,352]	7,313 [7,293; 7,315]#	7,318 [7,312; 7,353]
pCO <sub>2</sub> , мм рт. ст.	5,3 [4,7; 5,9]	4,7 [4,5; 5,1]	6,5 [4,3; 8,7]	6,5 [5,2; 8,2]#
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , ммоль/л	2,7 [2,3; 3,3]	2,5 [2,3; 2,7]	3,3 [2,30; 4,2]	3,3 [2,80; 4,18]#
TCO <sub>2</sub> , ммоль/л	2,9 [2,4; 5,9]	2,6 [2,4; 2,9]	3,5 [2,4; 4,5]	3,5 [2,83; 4,5]#
ABE, ммоль/л	-23,6 [-24,6; -20,4]	-23,7 [-23,8; -23,6]	-23,3 [-24,1; -22,4]	-23,2 [-23,48; -22,3]#
SBE, ммоль/л	-19,9 [-21,0; -17,1]	-20,6 [-20,7; -20,3]	-20,1 [-20,3; -19,5]#	-20,8 [-21,15; -20,53]Ψ
SBC, ммоль/л	9,0 [8,5; 10,8]	8,6 [8,6; 8,9]	8,9 [8,4; 9,4]\$	8,75 [8,4; 9,38]\$
p50 <sub>реал</sub> , мм рт. ст.	22,9 [22,4; 23,97]	27,9 [27,49; 27,92]*	29,9 [29,79; 31,13]*#	27,6 [27,49; 27,85]*Ψ
p50 <sub>станд</sub> , мм рт. ст.	20,6 [20,2; 21,6]	25,4 [23,0; 26,9]*	28,4 [27,4; 29,0]*#	23,4 [23,4; 23,6]*Ψ

Примечание – \* – достоверные изменения в сравнении с контролем; # – с группой образцов озон + эритроцитарная суспензия; Ψ – с группой образцов озон + эритроцитарная суспензия + нитроглицерин.



**Рисунок 3.7 – Эффект озона на положение кривой диссоциации оксигемоглобина при реальных значениях pH и pCO<sub>2</sub> в эритроцитарной суспензии при добавлении доноров газотрансмиттеров**

Примечание – ■ – контроль; ▲ – озон + эритроцитарная суспензия; ◆ – озон + эритроцитарная суспензия + нитроглицерин.

В условиях добавления озона к эритроцитарной суспензии наблюдается рост содержания МДА на 86,2% ( $p < 0,05$ ), ДК – на 77,4% ( $p < 0,05$ ) в сравнении с контролем (таблица 3.7), тогда как активность каталазы уменьшается на 47,4% ( $p < 0,05$ ). Добавление доноров газотрансмиттеров нитроглицерина и NaHS не приводит к изменениям показателей активности процессов ПОЛ, однако вызывает увеличение активности каталазы на 46,1% ( $p < 0,05$ ) и на 43,8% ( $p < 0,05$ ) соответственно в сравнении с группой экспериментальных образцов «Озон + эритроцитарная суспензия».

Выявленное изменение показателей кислородсвязывающих свойств суспензии эритроцитов, вызванное O<sub>3</sub>, является одним из механизмов действия данного газа на адаптивные процессы организма, реализуемого непосредственно на уровне эритроцитов. Озон за счет своей окислительной активности стимулирует АОС защиты данных клеток и улучшает их деформируемость [165, с. 365]. При нейтрализации АФК образуется H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, что приводит

к возрастанию активности каталазы [166, с. 4]. Однако в наших исследованиях активность этого фермента снижается – данный факт свидетельствует о дисбалансе между антиоксидантами и процессами генерации свободных радикалов.

Таблица 3.7 – Эффект озона на параметры прооксидантно-антиоксидантного баланса суспензии эритроцитов (Me [25; 75])

Показатель	Контроль	Озон + эритроцитарная суспензия	Озон + эритроцитарная суспензия + нитроглицерин	Озон + эритроцитарная суспензия + NaHS
n	10	10	10	10
Эритроцитарная масса				
Малоновый диальдегид, мкмоль/л	8,7 [7,63; 9,21]	16,2 [11,84; 17,57]*	14,6 [11,57; 17,84]*	15,6 [14,73; 16,31]*
Диеновые конъюгаты, ЕД/мл	16,6 [15,50; 18,23]	29,5 [17,54; 34,87]*	28,5 [25,29; 29,26]*	28,5 [27,12; 29,89]*
Каталаза, ммоль H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /мин/г Нб	13,5 [12,19; 14,02]	7,51 [6,18; 9,88]*	10,9 [10,23; 11,47]*#	10,8 [10,04; 11,60]*#

Примечание – \* – достоверные изменения в сравнении с контролем; # – с группой образцов озон + эритроцитарная суспензия.

Таким образом, в ходе проведённого исследования установлено, что эффект O<sub>3</sub> на кислородсвязывающие свойства крови реализуется непосредственно на уровне эритроцитарного звена. Нитроглицерин усиливает данный эффект, что проявляется уменьшением СГК и более выраженным сдвигом КДО вправо, тогда как добавление NaHS не вызывает подобных изменений. Отмечается увеличение показателей ПОЛ (МДА, ДК) при добавлении O<sub>3</sub>, однако при этом регистрируется рост активности каталазы в условиях введения доноров газотрансмиттеров монооксида азота и сероводорода, что свидетельствует о их позитивной роли в регуляции прооксидантно-антиоксидантного баланса.

Внесение нитроглицерина усиливает эффект озона на кислородсвязывающие свойства крови (рост pO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>) и приводит

к уменьшению СГК. Ингибитор фермента NO-синтазы L-NAME, L-аргинин и их комбинация подобный эффект не оказывают. В условиях введения нитроглицерина отмечается увеличение концентрации нитрат/нитритов и сероводорода в плазме крови при действии озона, что отражает участие данных газотрансмиттеров в модификации кислородного обеспечения.

Показатели активности процессов ПОЛ (МДА, ДК) в условиях воздействия на NO-генерирующую систему в эритроцитах существенно не изменяются. Внесение нитроглицерина и L-аргинина в присутствии озона вызывают рост концентраций ретинола и  $\alpha$ -токоферола в плазме крови.

Введение ингибитора синтеза  $H_2S$  (PAG) приводит к снижению эффекта озона на кислородсвязывающие свойства крови (уменьшаются значения  $pO_2$ ,  $SO_2$ ,  $p50_{реал}$ , наблюдается сдвиг КДО влево). Введение натрия гидросульфида в условиях добавления  $O_3$  не изменяет указанные параметры. Внесение нитроглицерина в комбинации с  $H_2S$  увеличивает влияние данного газа на кислородсвязывающие свойства крови. В условиях введения озона модуляция синтеза газотрансмиттера  $H_2S$  (использование как ингибитора, так и донора) не влияет на активность процессов ПОЛ. Однако доноры  $H_2S$  и NO вызывают рост активности каталазы, при этом концентрации ретинола и  $\alpha$ -токоферола в плазме крови не изменяются. Внесение пропаргилглицина в условиях действия озона приводит к уменьшению уровня нитрат/нитритов в плазме крови, а натрия гидросульфид увеличивает их концентрацию. Комбинация натрия гидросульфида и нитроглицерина способствует росту сероводорода в плазме крови.

Инкубация крови с озоном способствует росту параметров кислородсвязывающих свойств суспензии эритроцитов ( $pO_2$ ,  $SO_2$ ), сдвигу КДО вправо. Добавление нитроглицерина усиливает эффект озона на показатели кислородсвязывающих свойств суспензии эритроцитов, натрия гидросульфид подобного действия не оказывает. В эритроцитарной суспензии при действии  $O_3$  наблюдается увеличение концентраций ДК, МДА и снижение активности каталазы в эритроцитарной массе, а доноры газотрансмиттеров активируют каталазу.

## Глава 4

# КИСЛОРОДСВЯЗЫВАЮЩИЕ СВОЙСТВА И ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНЫЙ БАЛАНС КРОВИ ПРИ ДЕЙСТВИИ ОЗОНА И РАЗНЫХ ПАРЦИАЛЬНЫХ ДАВЛЕНИЯХ КИСЛОРОДА И УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА

В клинической практике активно применяются немедикаментозные методы лечения, в частности, для симптоматической терапии коронавирусной инфекции широко используется  $O_3$ , однако механизмы действия данного газа не раскрыты [1, с. 2]. Озон стимулирует метаболические процессы в эритроцитах, оказывая непосредственное влияние на кислородзависимые механизмы [167]. Применение его у пациентов с острым респираторным дистресс-синдромом, вызывает рост  $SO_2$  и респираторного индекса  $PaO_2/FiO_2$  [168, с. 3]. Увеличение  $pO_2$  приводит к трансформации структуры гемоглобина и его способности связывания с данным газом [169, с. 37].

Газотрансммиттеры  $NO$  и  $H_2S$  также оказывают влияние на кислородсвязывающие свойства крови [170, с. 1–2]. Кроме того, они участвуют в механизмах реализации эффекта  $O_3$  на кислородзависимые процессы, в частности, пероксинитрит изменяет положение КДО в гиперкапнической среде [150, с. 121–122]. Как известно,  $CO_2$  и  $O_2$  оказывают влияние на кислородсвязывающие свойства крови [171, с. 3–5], в том числе и за счёт влияния на механизмы синтеза  $NO$  и  $H_2S$  [172, с. 18]. В связи с этим особый интерес вызывает изучение эффектов  $O_3$  при различных парциальных давлениях  $CO_2$  и  $O_2$  в условиях добавления доноров газотрансммиттеров в опытах *in vitro*. В данной главе представлены результаты, характеризующие кислородсвязывающие свойства крови, состояние её прооксидантно-антиоксидантного баланса и уровни газотрансммиттеров при воздействии  $O_3$  при разных значениях  $pO_2$  и  $pCO_2$ .

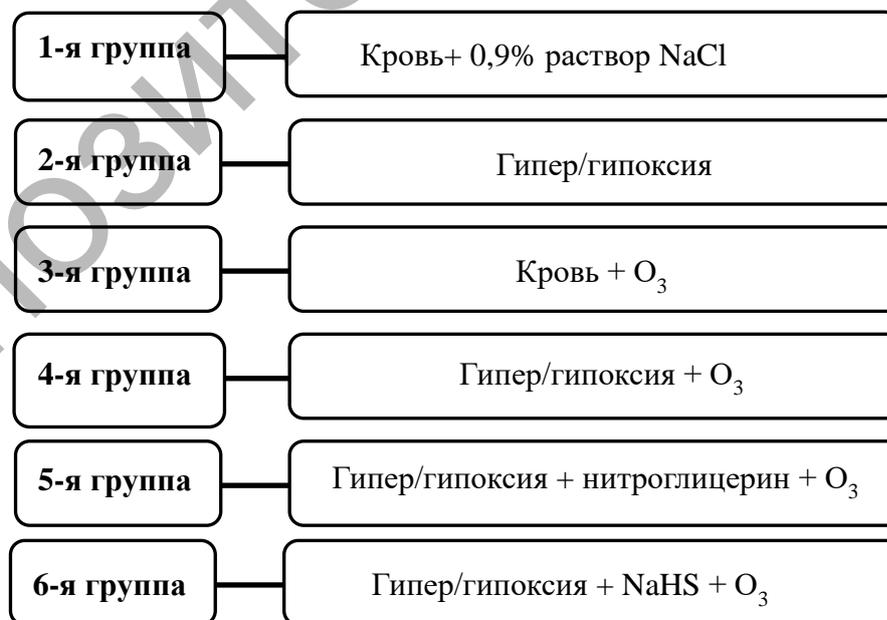
На данном этапе были проведены две серии экспериментов в условиях обработки гипер- и гипоксической газовыми смесями

при добавлении  $O_3$ . Все газовые смеси, которые использовались в данной серии и в последующих, изготовлены ОАО «Крион» (Республика Беларусь) в соответствии с технологическими характеристиками (давление газовой смеси 14,7 Мпа, объём в баллоне ёмкостью 40 л составлял 5,88 м<sup>3</sup>).

Образцы крови (n=10), подготовленные для каждой смеси, были разделены на шесть групп экспериментальных образцов по 3 мл: к группам 1 (контрольной) и 2 добавляли 1,1 мл 0,9% раствора NaCl; к группам 3 и 4 – озонированный 0,9% раствор NaCl в объёме 1 мл и 0,1 мл 0,9% раствора NaCl; группе 5 – озонированный 0,9% раствор NaCl в объёме 1 мл и 0,1 мл раствора, содержащего нитроглицерин (Schwarz Pharma AG) в конечной концентрации 0,05 ммоль/л; группа 6 – озонированный 0,9% раствор NaCl в объёме 1 мл и 0,1 мл раствора, содержащего NaHS (Sigma-Aldrich) в конечной концентрации 0,38 ммоль/л; после чего пробы перемешивались. Концентрация  $O_3$  в 0,9% растворе NaCl составляла 6 мг/л.

В первой серии эксперимента в группах 2, 4, 5, 6 предварительно осуществляли обработку крови в термостатируемом сатураторе гипероксической (94,5%  $O_2$ ; 5,5%  $CO_2$ ), во второй – гипоксической (5,5%  $CO_2$ ; 94,5%  $N_2$ ) газовыми смесями на протяжении 30 минут.

Схема эксперимента представлена на рисунке 4.1.



**Рисунок 4.1 – Схема эксперимента по изучению эффекта озона при различном парциальном давлении кислорода**

#### 4.1 Эффект озона на кислородсвязывающие свойства крови при разном парциальном давлении кислорода

В данном разделе рассматривается роль озона в изменении показателей кислородсвязывающих свойств крови и уровней газотрансмиттеров при гипер/гипоксии. При добавлении озона в кровь, насыщенную гипероксической газовой смесью, отмечается рост  $pO_2$  на 143,8% ( $p < 0,05$ ),  $SO_2$  – на 51,4% ( $p < 0,05$ ), показателя СГК  $p50_{реал}$  – на 30,1% ( $p < 0,05$ ) (таблица 4.1) и, соответственно, КДО сдвигается вправо по сравнению группой экспериментальных образцов, в которую вводили только озон (рисунок 4.2).

Согласно представленным данным, при добавлении озона в кровь, насыщенную гипероксической газовой смесью, также наблюдается увеличение  $p50_{станд}$  на 22,5% ( $p < 0,05$ ). Внесение нитроглицерина усиливает эффект данного газа на кислородсвязывающие свойства крови в заданных условиях:  $pO_2$  и  $SO_2$  увеличиваются на 25,9% ( $p < 0,05$ ) и 23,2% ( $p < 0,05$ ) соответственно. Показатель  $p50_{реал}$  возрастает на 24,5% ( $p < 0,05$ ), и сдвиг КДО вправо становится ещё более выраженным (рисунок 4.2). Введение натрия гидросульфида не оказывает подобного эффекта.

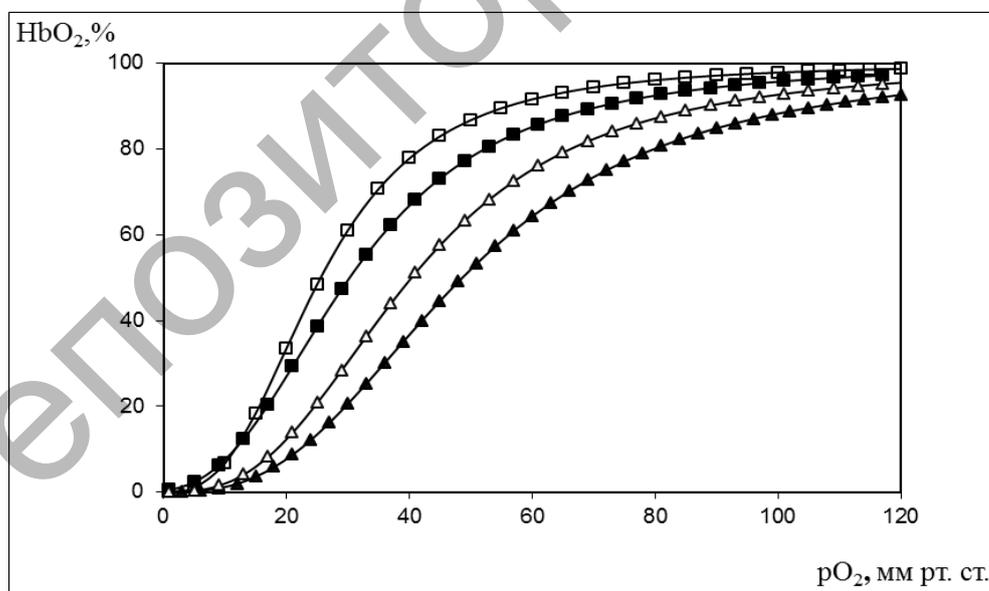


Рисунок 4.2 – Эффект озона на положение кривой диссоциации оксигемоглобина при реальных значениях  $pH$  и  $pCO_2$  в условиях сатурации крови гипероксической газовой смесью

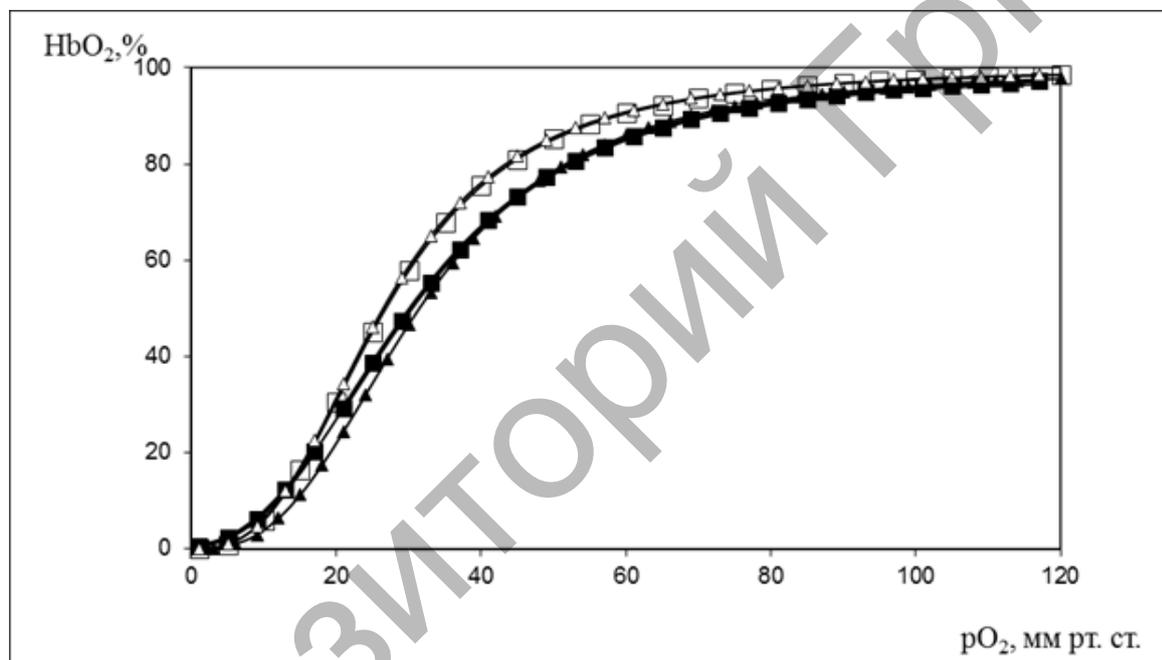
Примечание – □ – контроль; ■ – озон; △ – гипероксия + озон, ▲ – гипероксия + озон + нитроглицерин.

Таблица 4.1 – Эффект озона на кислородсвязывающие свойства крови при добавлении доноров газотрансмиттеров в условиях её гипероксии (Ме [25; 75])

Показатель	Контроль	Гипероксия	Озон	Гипероксия + озон	Гипероксия + озон + нитроглицерин	Гипероксия + озон + NaHS
n	10	10	10	10	10	10
SO <sub>2</sub> , %	30,1 [23,73; 30,18]	44,5 [39,8; 50,5]*	33,35 [30,23; 39,6]*#	50,5 [50,2; 53,3]*Ψ	62,2 [50,5; 65,1]*#Ψ\$	57,1 [51,4; 72,6]*#Ψ
pO <sub>2</sub> , мм рт. ст.	20,9 [20,2; 22,1]	53,3 [49,8; 56,2]*	24,9 [23,53; 26,8]*#	60,7 [58,4; 62,2]*#Ψ	76,5 [75,6; 82,9]*#Ψ\$	67,9 [61,2; 93]*#Ψ
pH, ед.	7,413 [7,410; 7,422]	7,341 [7,332; 7,363]*	7,431 [7,417; 7,450]#	7,452 [7,373; 7,492]#	7,421 [7,332; 7,471]	7,422 [7,321; 7,442]
pCO <sub>2</sub> , мм рт. ст.	34,2 [30,28; 37,2]	44,8 [42,78; 46,03]*	27,9 [26,43; 29,85]*#	40,5 [34,68; 42,55]*#Ψ	40,4 [38,30; 46,60]*Ψ	41,8 [40,8; 44,0]*Ψ
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , ммоль/л	21,9 [20,88; 22,73]	23,7 [23,13; 24,08]*	20,8 [20,73; 22,33]#	20,6 [20,24; 21,48]#	17,9 [15,58; 20,48]*#\$	19,8 [19,05; 20,4]*#\$
TCO <sub>2</sub> , ммоль/л	21,8 [21,53; 22,88]	25,3 [24,98; 26,5]*	20,7 [20,03; 21,85]*#	21,7 [20,48; 22,73]#	20,3 [20,1; 20,7]*#\$	20,9 [20,8; 22,0]#Ω
ABE, ммоль/л	-3,3 [-4,65; -2,35]	-2,4 [-3,2; -1,85]	-4,1 [-4,8; -2,6]	-4,9 [-5,48; -3,23]#	-5,7 [-6,15; -3,98]#	-5,7 [-6,98; -3,25]#
SBE, ммоль/л	-1,7 [-2,55; -1,33]	-1,15 [-2,85; -0,28]	-3,05 [-3,48; -1,78]	-3,65 [-4,3; -2,28]*#	-5,20 [-5,8; -4,65]*#Ψ\$	-5,5 [-6,4; -2,93]*#
SBC, ммоль/л	21,8 [20,48; 23,3]	22,9 [22,13; 23,68]	21,6 [21,28; 22,68]	20,8 [20,43; 21,40]#	19,2 [18,95; 19,93]*#Ψ\$	20,6 [19,4; 21,95]#
p50 <sub>реал</sub> , мм рт. ст.	26,4 [25,65; 27,44]	35,1 [32,38; 52,6]*	30,9 [28,05; 37,2]*	40,3 [34,05; 46,61]*Ψ	50,2 [41,24; 54,15]*#Ψ\$	41,6 [36,31; 46,45]*Ψ
p50 <sub>станд</sub> , мм рт. ст.	26,5 [26,43; 26,7]	31,8 [29,7; 34,8]*	31,6 [26,75; 36,28]*	38,7 [30,5; 40,6]*#Ψ	47,7 [41,5; 52,9]*#Ψ\$	37,6 [33,8; 41,1]*#ΨΩ

Примечание – \* – достоверные изменения в сравнении с контролем; # – с группой образцов гипероксия; Ψ – с группой образцов озон; \$ – с группой образцов гипероксия + озон; Ω – с группой образцов гипероксия + озон + нитроглицерин.

Характер изменения показателей кислородсвязывающих свойств крови под влиянием озона при гипоксии представлен в таблице 4.2. Действие озона приводит к росту основных показателей, отражающих транспорт кислорода кровью. Проведение предварительной обработки крови газовой смесью с низким парциальным давлением  $O_2$  способствует снижению эффекта  $O_3$ , проявляется в уменьшении следующих показателей:  $pO_2$  – на 15,7% ( $p < 0,05$ ),  $SO_2$  – на 15,9% ( $p < 0,05$ ) в сравнении с группой экспериментальных образцов, в которой выполнялось только озонирование. Показатель СГК  $p50_{\text{реал}}$  при этом снижается на 14,6% ( $p < 0,05$ ), отражая сдвиг КДО влево (рисунок 4.3) и приближая её к значениям контроля.



**Рисунок 4.3 – Эффект озона на положение кривой диссоциации оксигемоглобина при реальных значениях pH и  $pCO_2$  при гипоксии**

Примечание – □ – контроль; ■ – озон; △ – гипоксия + озон; ▲ – гипоксия + озон + нитроглицерин.

Также наблюдается снижение  $p50_{\text{станд}}$  на 22,1% ( $p < 0,05$ ). Добавление нитроглицерина препятствует проявлению данного эффекта и характеризуется ростом  $pO_2$ ,  $SO_2$ ,  $p50_{\text{реал}}$  и  $p50_{\text{станд}}$  и сдвигом КДО вправо (рисунок 4.3), а натрия гидросульфид подобным эффектом не обладает. В группе образцов «Гипоксия» наблюдается снижение всех показателей кислородсвязывающих свойств крови в сравнении с контролем.

Таблица 4.2 – Эффект озона на кислородсвязывающие свойства крови при добавлении доноров газотрансмиттеров при гипоксии (Me [25; 75])

Показатель	Контроль	Гипоксия	Озон	Гипоксия + озон	Гипоксия + озон + нитроглицерин	Гипоксия + озон + NaHS
n	10	10	10	10	10	10
SO <sub>2</sub> , %	31,4 [25,3; 31,7]	18,1 [15,20; 23,1]*	33,3 [33,1; 36,3]*#	28,0 [24,10; 32,4]#Ψ	33,85 [32,8; 36,1]*#Ψ\$	23,5 [18,4; 28]ΨΩ
pO <sub>2</sub> , мм рт. ст.	20,5 [18,8; 20,7]	14,9 [14,3; 15]*	24,9 [23,7; 26,6]*#	21,0 [18,80; 23,2]#Ψ	24,4 [20,9; 33,9]*#Ψ\$	20,8 [16,4; 22,1]#ΨΩ
pH, ед.	7,417 [7,411; 7,418]	7,286 [7,261; 7,304]*	7,431 [7,417; 7,470]*#	7,285 [7,264; 7,302]*Ψ	7,287 [7,268; 7,323]*Ψ	7,277 [7,237; 7,287]*Ψ
pCO <sub>2</sub> , мм рт. ст.	34,2 [31,7; 36,8]	57,0 [54,6; 59,1]*	28,5 [25,3; 34,2]*#	54,4 [51; 58,9]*Ψ	51,8 [50,4; 53,7]*#Ψ	54,2 [49,6; 56,4]*Ψ
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , ммоль/л	21,6 [20; 22,3]	28,2 [26,5; 29,6]*	20,6 [20,3; 21,5]#	26,4 [25,7; 26,7]*#Ψ	25,3 [23,3; 26,5]*# Ψ\$	27,1 [26,6; 28,6]*ΨΩ
TCO <sub>2</sub> , ммоль/л	21,9 [21; 23,4]	30,1 [28,1; 31,4]*	20,8 [20,6; 22,4]*#	28,0 [27,4; 28,3]*#Ψ	26,9 [24,9; 28,4]*#Ψ	28,5 [27,9; 29,9]*Ψ
ABE, ммоль/л	-3,2 [-3,8; -2,3]	0,1 [-0,2; 0,8]*	-4 [-4,7; -3,6]#	-0,6 [-1,2; 0,3]*Ψ	-1,55 [-3,8; -1]*#Ψ\$	0,2 [-0,1; 0,8]*ΨΩ
SBE, ммоль/л	-1,8 [-2,4; -1,2]	0,7 [0,3; 1]*	-3,1 [-3,6; -2,3]*#	-0,2 [-0,7; 0,5]*#Ψ	-1,2 [-3; -0,9]#Ψ\$	0,6 [0,2; 1,3]*ΨΩ
SBC, ммоль/л	21,7 [21,2; 22,1]	24,55 [24; 26]*	21,6 [21,2; 22,2]#	23,4 [22,9; 24,2]*#Ψ	22,1 [20,9; 22,4]#\$	23,8 [23,3; 24,4]*ΨΩ
p50 <sub>реал</sub> , мм рт. ст.	26,8 [25,5; 27,9]	22,16 [19,52; 24,29]*	30,9 [26,74; 38,6]*#	26,4 [25,27; 27,58]#Ψ	31,5 [30,62; 38,97]*#Ψ\$	25,2 [24,53; 30,1]#Ψ Ω
p50 <sub>станд</sub> , мм рт. ст.	26,5 [25,4; 27,7]	21,6 [21; 23,8]*	31,5 [26,7; 36,6]*#	24,5 [24; 26,1]*#Ψ	27,1 [26,9; 35,3]*#Ψ\$	23,1 [22,1; 23,6]*ΨΩ

Примечание – \* – достоверные изменения в сравнении с контролем, # – с группой образцов гипоксия, Ψ – с группой образцов озон, \$ – с группой образцов гипоксия + озон, Ω – с группой образцов гипоксия + озон + нитроглицерин.

Полученные результаты свидетельствуют о важной роли NO в автономной внутриэритроцитарной системе регуляции СГК [150, с. 138]. Кроме того, следует обратить внимание, что противогипоксическое действие O<sub>3</sub> реализуется, в том числе за счёт влияния на синтез монооксида азота [173] и эффекта Бора [155, с. 4].

Таким образом, добавление озона в кровь, предварительно обработанную гипероксической газовой смесью, приводит к усилению эффекта данного газа на параметры кислородсвязывающих свойств крови, а введение нитроглицерина ещё больше увеличивает этот эффект.

#### **4.2 Влияние озона на показатели прооксидантно-антиоксидантного баланса крови и содержание монооксида азота, сероводорода при разном парциальном давлении кислорода**

В данной серии эксперимента оценивали действие озона на параметры активности показателей ПОЛ и АОС в гипер/гипоксических условиях. При добавлении озона в условиях предварительной обработки крови газовой смесью с высоким парциальным давлением кислорода наблюдается рост МДА в эритроцитах, а показатели антиоксидантной защиты не изменяются в сравнении с группой экспериментальных образцов, в которую добавляли только озон (таблица 4.3). В группе образцов с нитроглицерином при этом содержание ДК, МДА в эритроцитарной массе растёт. Натрия гидросульфид и нитроглицерин в данных условиях приводят к увеличению активности каталазы по сравнению с группой экспериментальных образцов «Гипероксия + озон».

Параметры прооксидантно-антиоксидантного баланса при гипоксии и воздействии озоном представлены в таблице 4.4.

Таблица 4.3 – Эффект озона на показатели прооксидантно-антиоксидантного баланса крови при добавлении доноров газотрансмиттеров в условиях гипероксии (Ме [25; 75])

Показатель	Контроль	Гипероксия	Озон	Гипероксия+озон	Гипероксия + нитроглицерин + озон	Гипероксия + NaHS + озон
n	10	10	10	10	10	10
Эритроцитарная масса						
Малоновый диальдегид, мкмоль/л	5,1 [4,08; 6,11]	16,2 [13,88; 16,76]*	15,9 [13,15; 17,76]*	19,3 [18,26; 23,09]*#Ψ	24,5 [17,30; 24,93]*#Ψ\$	22,0 [18,55; 26,31]*#Ψ
Диеновые конъюгаты, ЕД/мл	18,5 [17,10; 20,25]	24,5 [21,39; 25,78]*	23,1 [20,13; 24,51]*	27,5 [24,16; 28,6]*#	32,9 [29,56; 37,51]*#Ψ\$	30,9 [24,57; 34,9]*#Ψ
Каталаза, ммоль Н <sub>2</sub> О <sub>2</sub> /мин/г Нь	11,0 [10,76; 11,82]	13,8 [13,06; 18,26]*	14,5 [13,77; 15,47]*	17,0 [12,57; 20,87]*	23,9 [20,25; 29,89]*#Ψ\$	22,6 [20,92; 24,44]*#Ψ\$
Плазма крови						
Ретинол, мкмоль/л	0,82 [0,63; 0,91]	1,13 [0,88; 1,19]*	1,1 [0,88; 1,18]*	1,0 [0,80; 1,1] *	1,2 [0,71; 1,11]*	1,1 [0,7; 1,01]*
α-токоферол, мкмоль/л	8,1 [7,05; 10,16]	15,2 [11,52; 19,27]*	14,9 [8,75; 21,41]*	14,3 [11,37; 17,68]*	15,1 [12,07; 17,21]*	15,3 [13,88; 19,16]*

Примечание – \* – достоверные изменения в сравнении с контролем; # – с группой образцов гипероксия; Ψ – с группой образцов озон; \$ – с группой образцов гипероксия + озон; Ω – с группой образцов гипероксия + нитроглицерин + озон.

Таблица 4.4 – Эффект озона на показатели прооксидантно-антиоксидантного баланса крови при добавлении доноров газотрансмиттеров при гипоксии (Ме [25; 75])

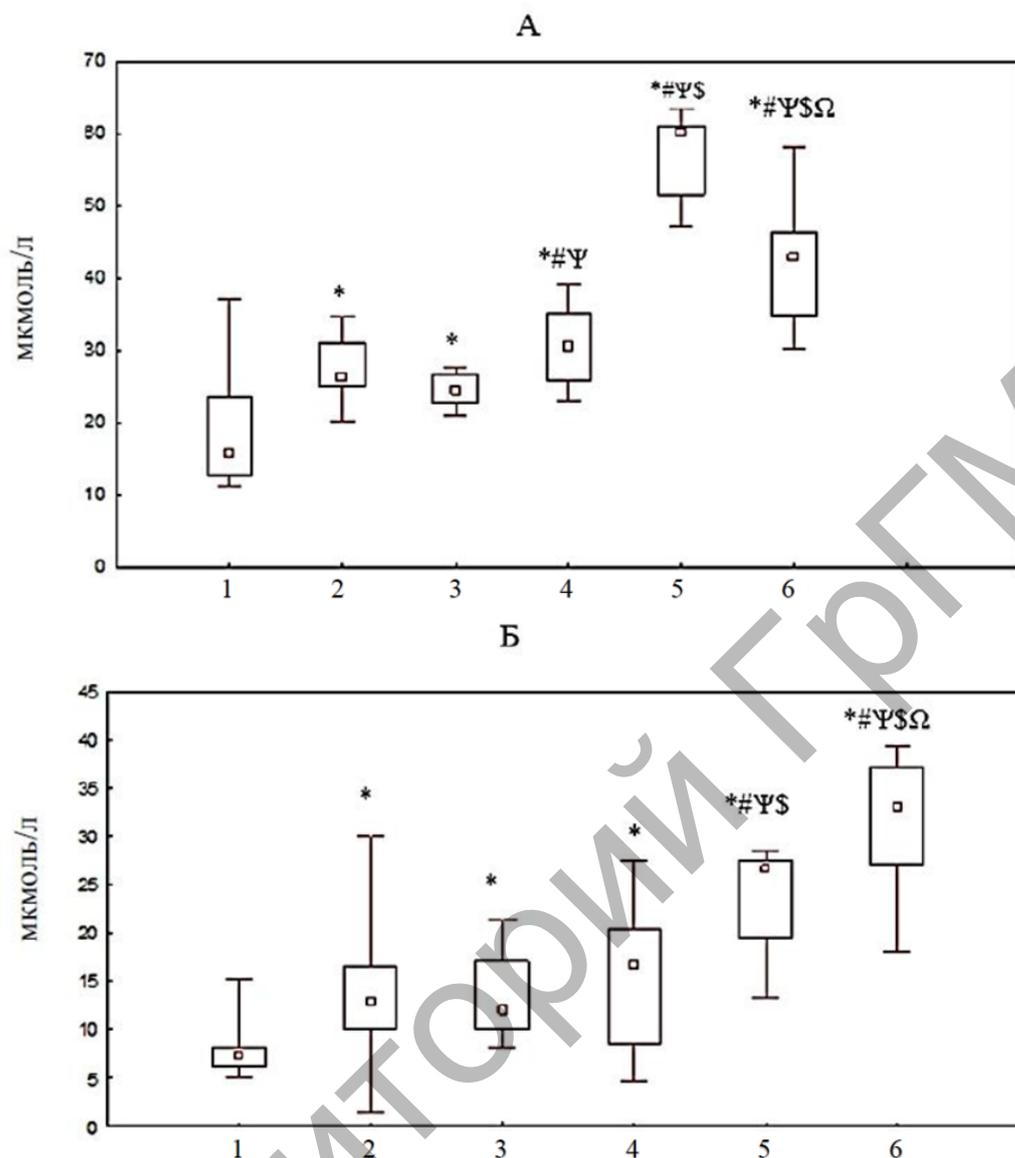
Показатель	Контроль	Гипоксия	Озон	Гипоксия + озон	Гипоксия + озон + нитроглицерин	Гипоксия + озон + NaHS
n	10	10	10	10	10	10
Эритроцитарная масса						
Малоновый диальдегид, мкмоль/л	4,9 [4,25; 5,77]	5,5 [5,39; 5,84]	16,6 [16,04; 17,1]*#	13,4 [11,0; 13,6]*#Ψ	12,8 [12,3; 13,1]*#Ψ	13,6 [10,78; 14,99]*#
Диеновые конъюгаты, ЕД/мл	18,2 [17,34; 18,56]	18,2 [16,99; 21,39]	22,9 [20,20; 26,82]*	18,8 [18,22; 19,63]Ψ	17,4 [15,48; 21,12]Ψ	18,9 [15,84; 22,24]
Каталаза ммольН <sub>2</sub> О <sub>2</sub> / мин/г Нь	10,6 [10,25; 10,87]	11,2 [10,71; 16,35]	13,9 [13,24; 14,21]*	14,9 [13,85; 16,08]*	15,7 [14,13; 16,57]*Ψ	15,5 [14,48; 17,21]*Ψ
Плазма крови						
Ретинол, мкмоль/л	0,84 [0,81; 0,87]	0,89 [0,86; 0,91]	1,2 [0,95; 1,12]*#	0,83 [0,76; 0,93]Ψ	0,87 [0,77; 0,94]	0,85 [0,74; 0,97]
α-токоферол, мкмоль/л	8,3 [7,95; 8,65]	8,9 [8,17; 10,05]	14,8 [12,72; 17,34]*#	10,7 [10,27; 12,62]*#Ψ	10,8 [10,55; 13,75]*#Ψ	10,9 [10,27; 12,06]*#Ψ

Примечание – \* – достоверные изменения в сравнении с контролем; # – с группой образцов гипоксия; Ψ – с группой образцов озон; \$ – гипоксия + озон; Ω – с группой образцов гипоксия + нитроглицерин + озон.

Инкубация крови с озонированным изотоническим раствором натрия хлорида в условиях предварительной обработки гипоксической смесью характеризуется снижением содержания ДК, МДА в эритроцитарной массе, концентраций  $\alpha$ -токоферола, ретинола в плазме крови в сравнении с группой образцов, в которую добавляли только озон; активность каталазы при этом не изменяется. Добавление нитроглицерина и натрия гидросульфида не вызывает значимых изменений данных показателей, за исключением каталазы, по сравнению с группой экспериментальных образцов «Гипоксия + озон». При гипоксии не наблюдается изменений параметров прооксидантно-антиоксидантного баланса в сравнении с контролем.

В условиях предварительной гипероксии под действием  $O_3$  содержание  $NO_3^-/NO_2^-$  и  $H_2S$  в плазме крови возрастает на 24,7% ( $p < 0,05$ ) и на 38,1% ( $p < 0,05$ ) соответственно (рисунок 4.4) по сравнению с группой, в которую вводили только озон. Добавление нитроглицерина в условиях гипероксии приводит к увеличению содержания  $NO_3^-/NO_2^-$  на 97,9% ( $p < 0,05$ ) и  $H_2S$  на 59,9% ( $p < 0,05$ ) в сравнении с группой экспериментальных образцов «Гипероксия + озон». Схожая динамика этих показателей наблюдается и в группе экспериментальных образцов «Гипоксия + озон + NaHS».

На рассматриваемом этапе выполнены две серии экспериментов в условиях обработки гипер- и гипокапнической газовыми смесями при добавлении  $O_3$ . Образцы крови ( $n=10$ ), подготовленные для каждой смеси, были разделены на шесть групп экспериментальных образцов по 3 мл: к группам 1 (контрольной) и 2 добавляли 1,1 мл 0,9% раствора NaCl; к группам 3 и 4 – озонированный 0,9% раствор NaCl в объеме 1 мл и 0,1 мл 0,9% раствора NaCl; группе 5 – озонированный 0,9% раствор NaCl в объеме 1 мл и 0,1 мл раствора, содержащего нитроглицерин (Schwarz Pharma AG) в конечной концентрации 0,05 ммоль/л; группе 6 – озонированный 0,9% раствор NaCl в объеме 1 мл и 0,1 мл раствора, содержащего NaHS (Sigma-Aldrich) в конечной концентрации 0,38 ммоль/л; после чего пробы перемешивались. Концентрация  $O_3$  в 0,9% растворе NaCl составляла 6 мг/л.



**Рисунок 4.4 – Концентрация нитрат/нитритов (А) и сероводорода (Б) в плазме крови в условиях гипероксии**

Примечание – контроль – 1, гипероксия – 2, озон – 3, гипероксия + озон – 4, гипероксия + нитроглицерин + озон – 5, гипероксия + NaHS + озон – 6; \* – достоверные изменения в сравнении с контролем, # – с группой образцов гипероксия, Ψ – с группой образцов озон, \$ – с группой образцов гипероксия + озон, Ω – с группой образцов гипероксия + нитроглицерин + озон.

В первой серии эксперимента в группах 2, 4, 5, 6 предварительно осуществляли обработку крови в термостатируемом сатураторе гипокапнической (4,2% CO<sub>2</sub>; 5,3% O<sub>2</sub>; 90,5% N<sub>2</sub>), во второй серии – гиперкапнической (9,5% CO<sub>2</sub>; 3,5% O<sub>2</sub>; 87,0% N<sub>2</sub>) газовыми смесями на протяжении 30 мин.

Схема проведения эксперимента представлена на рисунке 4.5.

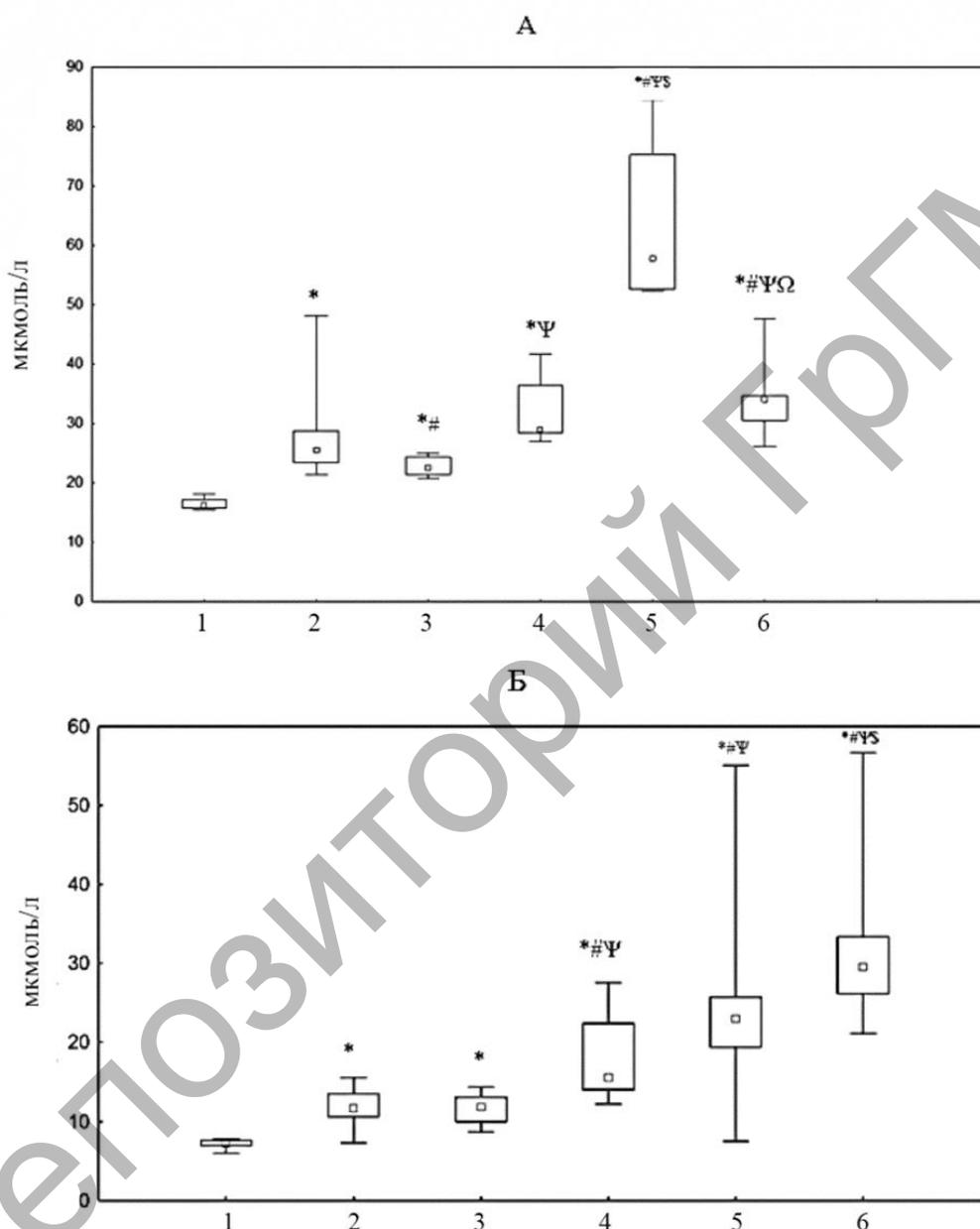


**Рисунок 4.5 – Схема эксперимента по изучению эффекта озона при различном парциальном давлении углекислого газа**

Содержание  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  и  $\text{H}_2\text{S}$  в плазме крови под действием  $\text{O}_3$  в условиях гипоксии возрастает на 28,6% ( $p < 0,05$ ) и на 31,3% ( $p < 0,05$ ) соответственно (рисунок 4.6). Добавление нитроглицерина и натрия гидросульфида в условиях гипоксии приводит к ещё более существенному росту  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  – на 98,5% ( $p < 0,05$ ) и на 17,4% ( $p < 0,05$ ) соответственно. Уровень  $\text{H}_2\text{S}$  повышается в группах с нитроглицерином и NaHS на 48,1% ( $p < 0,05$ ) и на 90,2% ( $p < 0,05$ ) соответственно в сравнении с группой экспериментальных образцов «Гипоксия + озон».

$\text{H}_2\text{S}$  участвует в защите от окислительного стресса, вызванного гипоксией [174]. В нашем эксперименте наблюдается увеличение уровня данного газотрансмиттера в условиях дезоксигенации, а добавление нитроглицерина и NaHS способствует ещё более выраженному его росту. В результате действия S-нитрозосоединений происходит трансформация молекул гемоглобина: окисление в их составе железа,

нитрозирование гема и, вероятно, SH-групп, что изменяет свойства гемопротейна, его способность связывать и удерживать кислород [175, с. 183–184]. Взаимодействие доноров монооксида азота и сероводорода может иметь значение для модификации СГК через образование различных дериватов гемоглобина.



**Рисунок 4.6 – Концентрация нитрат/нитритов (А) и сероводорода (Б) в плазме крови при гипоксии**

Примечание – контроль – 1, гипоксия – 2, озон – 3, гипоксия + озон – 4, гипоксия + нитроглицерин + озон – 5, гипоксия + NaHS + озон – 6; \* – достоверные изменения в сравнении с контролем, # – с группой образцов гипоксия, Ψ – с группой образцов озон, \$ – с группой образцов гипоксия + озон, Ω – с группой образцов гипоксия + нитроглицерин + озон.

Таким образом, в условиях гипероксии степень окислительного стресса, вызванного озоном, возрастает (увеличение МДА, ДК). Гипоксия способствует снижению данных параметров в сравнении с группой экспериментальных образцов, в которую добавляли только озон. Однако при гипероксии и гипоксии NO и H<sub>2</sub>S способствуют росту активности каталазы в эритроцитарной массе, наблюдается увеличение NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NO<sub>2</sub><sup>-</sup> и H<sub>2</sub>S в плазме крови при добавлении доноров газотрансмиттеров.

#### **4.3 Действие озона на кислородсвязывающие свойства крови при разном парциальном давлении углекислого газа**

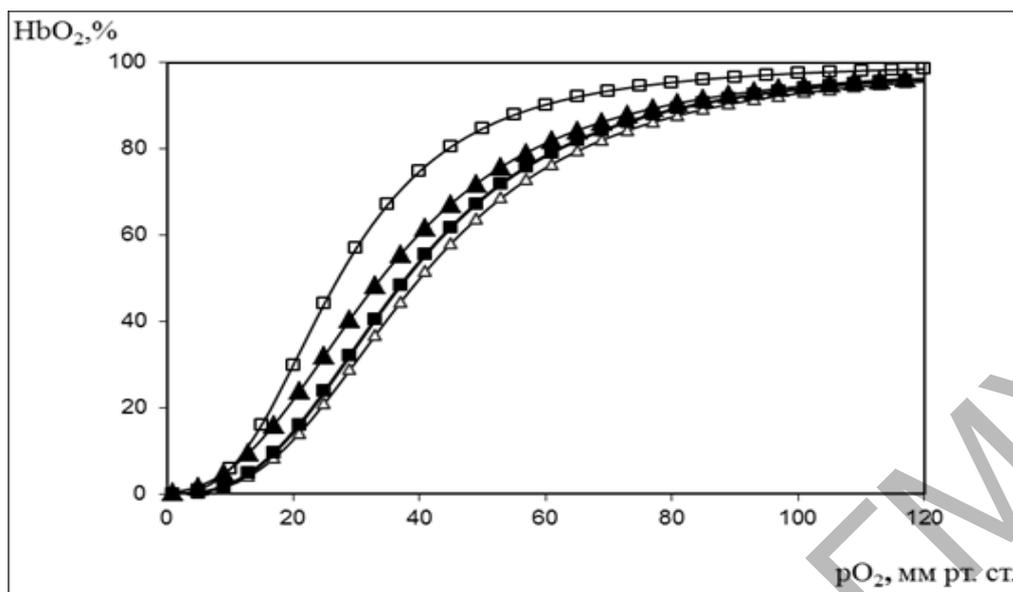
В следующей серии исследования определяли изменения характера показателей кислородсвязывающих свойств крови при обработке гипокапнической и гиперкапнической газовыми смесями, а также уровней газотрансмиттеров в условиях действия озона. Озон способствует увеличению параметров, выражающих кислородсвязывающие свойства крови (таблица 4.5). Проведение предварительной гипокапнии способствует усилению эффекта O<sub>3</sub>, наблюдается рост следующих показателей: pO<sub>2</sub> – на 31,9% (p<0,05), SO<sub>2</sub> – на 67,8% (p<0,05) в сравнении с группой экспериментальных образцов в которой выполнялось только озонирование. Показатель СГК p50<sub>реал</sub> при этом увеличивается на 22,9% (p<0,05), отражая сдвиг КДО вправо (рисунок 4.7), также наблюдается рост p50<sub>станд</sub>.

Добавление нитроглицерина в условиях обработки крови гипокапнической газовой смесью приводит к усилению эффекта O<sub>3</sub> и характеризуется ростом pO<sub>2</sub> на 17,8% (p<0,05), SO<sub>2</sub> – на 9,8% (p<0,05); p50<sub>реал</sub> возрастает на 3,2% (p<0,05), p50<sub>станд</sub> – на 3,3% (p<0,05), также отмечается более выраженный сдвиг КДО вправо (рисунок 4.7) в сравнении с группой экспериментальных образцов «Гипокапния + озон». Натрия гидросульфид подобным эффектом не обладает. В группе «Гипокапния» наблюдается снижение исследуемых показателей кислородсвязывающих свойств крови (pO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, p50<sub>реал</sub> и p50<sub>станд</sub>) в сравнении с контролем.

Таблица 4.5 – Эффект озона на кислородсвязывающие свойства крови при добавлении доноров газотрансмиттеров при гипокании (Me [25; 75])

Показатель	Контроль	Гипокапния	Озон	Гипокапния + озон	Гипокапния + нитроглицерин + озон	Гипокапния + NaHS + озон
n	10	10	10	10	10	10
SO <sub>2</sub> , %	30,2 [23,10; 32,10]	21,6 [21,1; 23,2]*	33,7 [31,0; 37,8]*#	56,5 [51,1; 60,5]*#Ψ	62,0 [60,2; 66,7]*#Ψ\$	55,2 [47,1; 58,4]*#ΨΩ
pO <sub>2</sub> , мм рт. ст.	20,4 [19,00; 22,50]	17,3 [16,6; 17,9]*	24,3 [21,8; 25,6]*#	32,0 [28,7; 34,7]*#Ψ	37,7 [34,2; 39,2]*#Ψ\$	33,8 [30,6; 34,7]*#ΨΩ
pH, ед.	7,411 [7,372; 7,431]	7,454 [7,417; 7,462]*	7,431 [7,417; 7,440]*	7,455 [7,382; 7,473]	7,421 [7,376; 7,46]	7,431 [7,341; 7,492]
pCO <sub>2</sub> , мм рт. ст.	34,6 [31,4; 36,8]	30,6 [30,2; 30,9]*	27,3 [21,4; 30,9]*	30,6 [30,3; 31,7]*	30,3 [28,9; 42,6]	30,8 [30,2; 43,2]Ψ
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , ммоль/л	22,1 [20,60; 22,90]	24,5 [23,8; 24,9]*	20,7 [20,5; 23,5]#	21,0 [20,5; 23,7]#	24,5 [23,7; 25,3]*Ψ\$	23,9 [23,4; 24,2]*Ψ
TCO <sub>2</sub> , ммоль/л	21,5 [20,90; 24,00]	25,7 [25,1; 26,1]*	20,9 [20,7; 24,9]#	21,1 [20,5; 24,4]#	25,7 [25,2; 26,8]*Ψ\$	25,1 [24,6; 25,7]*Ψ\$
ABE, ммоль/л	-3,2 [-3,7; -1,8]	-1,2 [-1,9; -0,5]*	-4,2 [-4,7; -2,3]#	-2,2 [-2,5; -0,4]*	-1,9 [-3,2; -0,2]	-2,2 [-3,2; -1,3]
SBE, ммоль/л	-1,4 [-1,7; -0,90]	-0,4 [-1,0; 0,40]	-3,1 [-3,3; -1,4]#	-1,1 [-1,8; 1,38]	-1,4 [-2,5; 0,4]	-1,7 [-2,4; -1,1]#
SBC, ммоль/л	22,2 [21,70; 22,70]	23,5 [22,9; 23,8]*	21,0 [20,6; 22,1]#	22,9 [22,2; 23,9]*Ψ	21,8 [21,0; 23,6]	21,9 [21,6; 22,4]#\$
p50 <sub>реал</sub> , мм рт. ст.	27,2 [26,26; 27,66]	21,8 [20,51; 22,90]*	30,9 [27,96; 37,21]*#	37,9 [36,73; 39,03]*#Ψ	39,1 [38,08; 48,92]*#Ψ\$	38,9 [30,56; 48,19]*#Ψ
p50 <sub>станд</sub> , мм рт. ст.	26,8 [26,6; 27,0]	20,7 [20,5; 21,0]*	31,9 [27; 36,8]*#	36,9 [36,6; 37,8]*#Ψ	38,2 [37,7; 39,5]*#Ψ\$	36,9 [36,3; 42,4]*#Ψ

Примечание – \* – достоверные изменения в сравнении контролем; # – с группой образцов гипокании; Ψ – с группой образцов озон; \$ – с группой образцов гипокании + озон; Ω – с группой образцов гипокании + нитроглицерин + озон.



**Рисунок 4.7 – Эффект озона на положение кривой диссоциации оксигемоглобина при реальных значениях pH и pCO<sub>2</sub> в условиях гипоксии**

Примечание – □ – контроль; ▲ – озон; ■ – гипоксия + озон; △ – гипоксия + нитроглицерин + озон.

Изменения показателей кислородсвязывающих свойств крови в условиях воздействия озона и обработки гиперкапнической газовой смесью представлены в таблице 4.6. Инкубация крови с O<sub>3</sub> приводит к увеличению следующих параметров кислородсвязывающих свойств: pO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, p50<sub>реал</sub> и p50<sub>станд</sub>.

Предварительная гиперкапния усиливает эффект O<sub>3</sub>, что подтверждает рост следующих показателей: pO<sub>2</sub> – на 40,3% (p<0,05), SO<sub>2</sub> – на 50,1% (p<0,05) в сравнении с группой экспериментальных образцов, в которой выполнялось только озонирование. Параметр SGK p50<sub>реал</sub> при этом увеличивается на 57,4% (p<0,05), отражая сдвиг КДО вправо (рисунок 4.8).

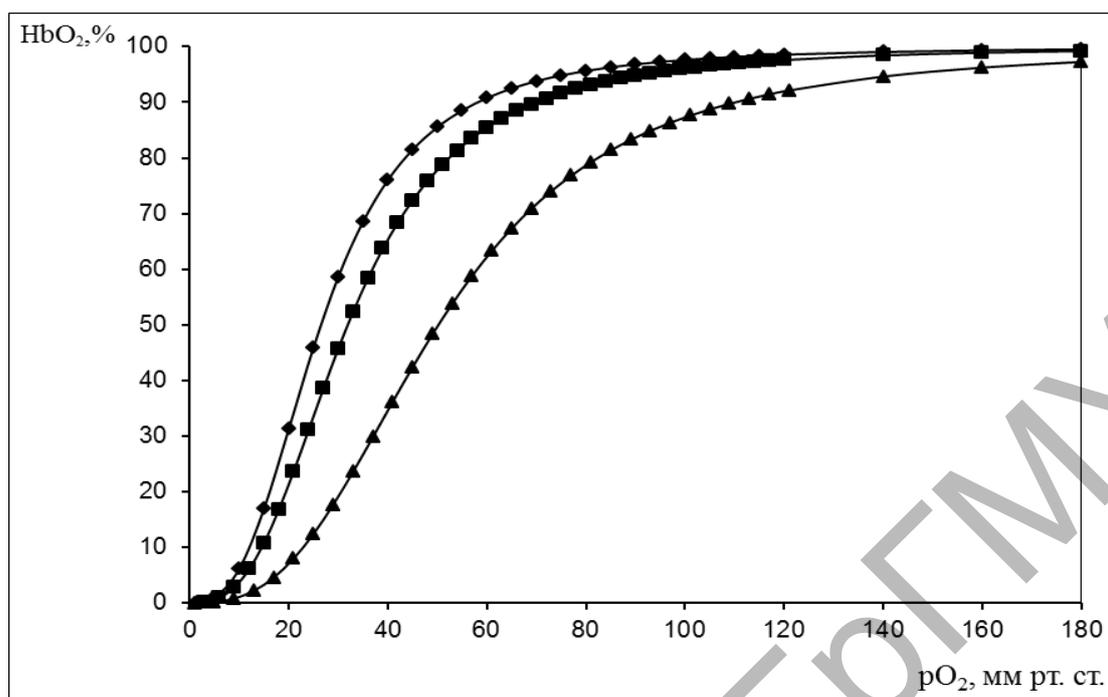
Показатель p50<sub>станд</sub> также возрастает. Добавление нитроглицерина и NaHS в данных условиях не влияет на эффект O<sub>3</sub> в отношении кислородсвязывающих свойств крови.

В реализации эффектов O<sub>3</sub> при гипоксии участвуют факторы внутриэритроцитарной системы регуляции кислородсвязывающих свойств крови. Данная система представляет собой аллостерическое взаимодействие между гемоглобином и разными физиологическими модуляторами (H<sup>+</sup>, 2,3-ДФГ, CO<sub>2</sub> и др.) [150, с. 14]. Действие озона способствует повышению SGK, что свидетельствует об ослаблении эффекта Бора.

Таблица 4.6 – Эффект озона на кислородсвязывающие свойства крови в гиперкапнических условиях (Ме [25; 75])

Показатель	Контроль	Гиперкапния	Озон	Гиперкапния + озон	Гиперкапния + нитроглицерин + озон	Гиперкапния+ NaHS + озон
n	10	10	10	10	10	10
SO <sub>2</sub> , %	30,8 [26,0; 32,1]	46,7 [45,0; 57,4]*	32,6 [31,6; 34,5]*#	48,9 [41,2; 53,5]*Ψ	43,1 [35,8; 50,6]*Ψ	46,4 [39,0; 54,6]*Ψ
pO <sub>2</sub> , мм рт. ст.	19,6 [18,5; 20,1]	33,2 [29,1; 37,6]*	24,1 [20,1; 25,8]*#	33,8 [30,7; 37,5]*Ψ	32,7 [29,6; 42,6]*Ψ	32,9 [30,7; 37,7]*Ψ
pH, ед.	7,411 [7,353; 7,413]	7,241 [7,206; 7,27]*	7,434 [7,429; 7,442]*#	7,215 [7,202; 7,266]*Ψ	7,207 [7,184; 7,235]*Ψ	7,220 [7,166; 7,264]*Ψ
pCO <sub>2</sub> , мм рт. ст.	34,7 [32,8; 38,7]	61,3 [58,2; 69,7]*	28,2 [27,6; 28,5]*#	66,2 [58,4; 69,8]*Ψ	67,1 [63,1; 73,3]*Ψ	65,1 [60,7; 82,1]*Ψ
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , ммоль/л	21,7 [21,4; 22,4]	26,7 [26,1; 27,7]*	20,9 [20,6; 21,2]#	27,2 [26,4; 27,9]*Ψ	27,7 [26,5; 27,9]*Ψ	28,6 [27,4; 29,9]*Ψ
TCO <sub>2</sub> , ммоль/л	21,2 [20,5; 22,8]	28,7 [28,1; 29,5]*	20,9 [20,8; 22,1]#	29,1 [28,2; 30,0]*Ψ	29,6 [28,7; 30,1]*Ψ	30,7 [29,4; 32,1]*#Ψ
ABE, ммоль/л	-3,2 [-3,7; -2,0]	-0,6 [-1,9; -0,2]*	-4,2 [-4,7; -3,6]*#	-0,1 [-1,3; 0,3]*Ψ	-0,35 [-1,4; 0,2]*Ψ	0,55 [-0,6; 1,4]*Ψ
SBE, ммоль/л	-1,7 [-2,4; -0,7]	-0,15 [-1,7; -0,1]	-3,25 [-3,5; -2,5]*#	0,15 [-0,8; 0,6]*Ψ	-0,65 [-1; 0,1]Ψ	0,45 [-0,6; 0,9]*Ψ
SBC, ммоль/л	21,7 [21,5; 22,6]	23,6 [22,2; 24,0]*	21,8 [21,2; 22,8]	23,8 [22,9; 24,1]*Ψ	22,9 [22,7; 23,6]*	24,0 [22,9; 24,5]*Ψ
p50 <sub>реал</sub> , мм рт. ст.	26,5 [26,30; 26,70]	32,3 [30,86; 33,28]*	31,9 [27,74; 36,36]*	50,2 [43,09; 53,93]*#Ψ	51,4 [41,29; 53,55]*#Ψ	49,9 [43,07; 52,89]*#Ψ
p50 <sub>станд</sub> , мм рт. ст.	26,6 [26,30; 26,70]	26,9 [26,5; 27,3]	32,0 [29,8; 33,2]*#	41,7 [37,2; 46,5]*#Ψ	40,2 [37,0; 44,3]*#Ψ	41,9 [36,9; 47,4]*#Ψ

Примечание – \* – достоверные изменения в сравнении контролем; # – с группой образцов гиперкапния; Ψ – с группой образцов озон; \$ – с группой образцов гиперкапния + озон; Ω – с группой образцов гиперкапния + нитроглицерин + озон.



**Рисунок 4.8 – Эффект озона на положение кривой диссоциации оксигемоглобина при реальных значениях pH и pCO<sub>2</sub> в условиях гиперкапнии**

Примечание – ♦ – контроль; ■ – озон; ▲ – гиперкапния + озон.

Результаты нашего эксперимента показывают, что эффект озона на кислородсвязывающие свойства крови при проведении предварительной обработки гиперкапнической газовой смесью увеличивается. Гиперкапния влияет на кровь, в частности увеличивает средний объём эритроцитов [176, с. 299]. Кроме того, молекула CO<sub>2</sub> связывается с дезоксигемоглобином (присоединяется к гистидину по 146-й позиции бета-цепи, которая образует неполярную связь с концевыми NH<sub>2</sub>-группами α-цепи), что приводит к стабилизации Т-структуры гемоглобина (эффект Бора).

Таким образом, обработка крови гипокапнической газовой смесью в условиях добавления O<sub>3</sub> способствует росту параметров её кислородсвязывающих свойств. Нитроглицерин усиливает данный эффект. Предварительная гиперкапния при добавлении O<sub>3</sub> также увеличивает значения показателей кислородсвязывающих свойств крови.

#### **4.4 Эффект озона на показатели активности свободнорадикальных процессов, антиоксидантного статуса и концентрацию монооксида азота, сероводорода при разном парциальном давлении углекислого газа**

В данном разделе представлены сведения об изменениях под действием  $O_3$  показателей активности ПОЛ и АОС при гипер/гипокапнии. Озонированный изотонический 0,9% раствор NaCl приводит к увеличению содержания ДК, МДА в эритроцитарной массе в сравнении с контролем (таблица 4.7). В группе экспериментальных образцов «Гипокапния + озон» не наблюдается роста этих параметров в сравнении с группой образцов «Озон». Добавление нитроглицерина и NaHS не приводит к значимым различиям данных показателей по сравнению с группой образцов «Гипокапния + озон». При гипокапнии наблюдается рост МДА в сравнении с контролем.

Изменения параметров антиоксидантной защиты представлены в таблице 4.7. Озонированный изотонический 0,9% раствор NaCl при обработке гипокапнической газовой смесью не вызывает изменений данных параметров в сравнении с группой образцов «Озон». Нитроглицерин и NaHS также не приводят к изменениям данных показателей по сравнению с группой образцов «Гипокапния + озон». При гипокапнии увеличивается каталаза в эритроцитарной массе в сравнении с контролем.

Показатели активности процессов ПОЛ в гиперкапнических условиях представлены в таблице 4.8. Непосредственно при гиперкапнии не выявлено изменения данных параметров в сравнении с контролем. Озонированный изотонический 0,9% раствор NaCl приводит к увеличению содержания ДК, МДА в эритроцитарной массе в сравнении с контролем. В группе экспериментальных образцов «Гиперкапния + озон» не отмечается рост этих параметров в сравнении с группой, в которой выполнялось только озонирование. Добавление нитроглицерина и NaHS приводит к увеличению ДК по сравнению с группой образцов «Гиперкапния + озон».

Таблица 4.7 – Эффект озона на показатели процессов перекисного окисления липидов крови и антиоксидантной защиты при добавлении доноров газотрансмиттеров при гипокапнии (Me [25; 75])

Показатель	Контроль	Гипокапния	Озон	Гипокапния + озон	Гипокапния + нитроглицерин + озон	Гипокапния + NaHS + озон
n	10	10	10	10	10	10
Эритроцитарная масса						
Малоновый диальдегид, мкмоль/л	4,8 [4,26; 6,42]	7,9 [7,1; 10,52]*	15,5 [14,57; 16,68]*#	15,3 [9,73; 19,73]*#	14,3 [13,15; 22,1]*#	14,2 [6,84; 17,1]*
Диеновые конъюгаты, ЕД/мл	18,6 [16,68; 19,78]	17,5 [12,36; 18,48]	22,8 [18,8; 26,36]*#	26,2 [24,88; 27,08]*#	27,1 [23,16; 29,48]*#	26,6 [24,28; 27,64]*#
Каталаза ммоль H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /мин/г Нв	9,1 [8,37; 10,82]	11,7 [10,71; 13,45]*	15,3 [13,2; 17,90]*#	14,2 [12,56; 18,74]*#	14,3 [11,76; 16,96]*#	13,4 [10,73; 17,85]*
Плазма крови						
Ретинол, мкмоль/л	0,82 [0,79; 0,98]	0,84 [0,53; 1,08]	1,31 [0,92; 1,68]*#	1,08 [1,04; 1,50]*	1,09 [1,07; 1,16]*#	1,05 [0,95; 1,09]*Ω
α-токоферол, мкмоль/л	8,9 [7,35; 10,38]	8,1 [6,88; 10,92]	15,8 [13,86; 20,25]*#	14,8 [10,83; 21,87]*#	14,8 [12,82; 32,2]*#	16,5 [13,61; 30,19]*#

Примечание – \* – достоверные изменения в сравнении с контролем; # – с группой образцов гипокапнии; Ψ – с группой образцов озон; \$ – с группой образцов гипокапния + озон; Ω – с группой образцов гипокапния + нитроглицерин + озон.

Таблица 4.8 – Эффект озона на показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты в крови в гиперкапнических условиях (Ме [25; 75])

Показатель	Контроль	Гиперкапния	Озон	Гиперкапния + озон	Гиперкапния + нитроглицерин + озон	Гиперкапния + NaHS + озон
n	10	10	10	10	10	10
Эритроцитарная масса						
Малоновый диальдегид, мкмоль/л	4,6 [4,47; 8,94]	7,4 [2,63; 8,68]	16,3 [12,62; 16,68]*#	15,4 [7,36; 19,73]*	15,3 [9,21; 18,15]*#	16,2 [9,99; 16,84]*#
Диеновые конъюгаты, ЕД/мл	18,3 [17,04; 20,48]	20,0 [19,4; 29,16]	24,2 [22,91; 25,08]*	24,6 [22,25; 28,18]*	28,2 [27,41; 29,24]*#Ψ\$	28,6 [27,80; 29,56]*#Ψ\$
Каталаза, ммоль H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /мин/г Нь	10,3 [7,49; 12,03]	11,7 [9,99; 13,77]	14,1 [9,32; 19,22]*	14,1 [11,76; 15,28]*	13,9 [9,04; 15,06]*	14,3 [9,99; 15,99]*
Плазма						
Ретинол, мкмоль/л	0,88 [0,76; 1,03]	0,99 [0,85; 1,11]	1,17 [1,0; 1,58]*	1,14 [1,08; 1,18]*	1,13 [1,08; 1,17]*	1,18 [1,15; 1,53]*#Ω
α-токоферол, мкмоль/л	8,6 [7,25; 11,5]	10,7 [9,55; 14,84]	13,4 [11,56; 17,94]*	14,7 [14,18; 17,54]*	16,5 [14,91; 18,27]*#	14,9 [13,03; 16,07]*

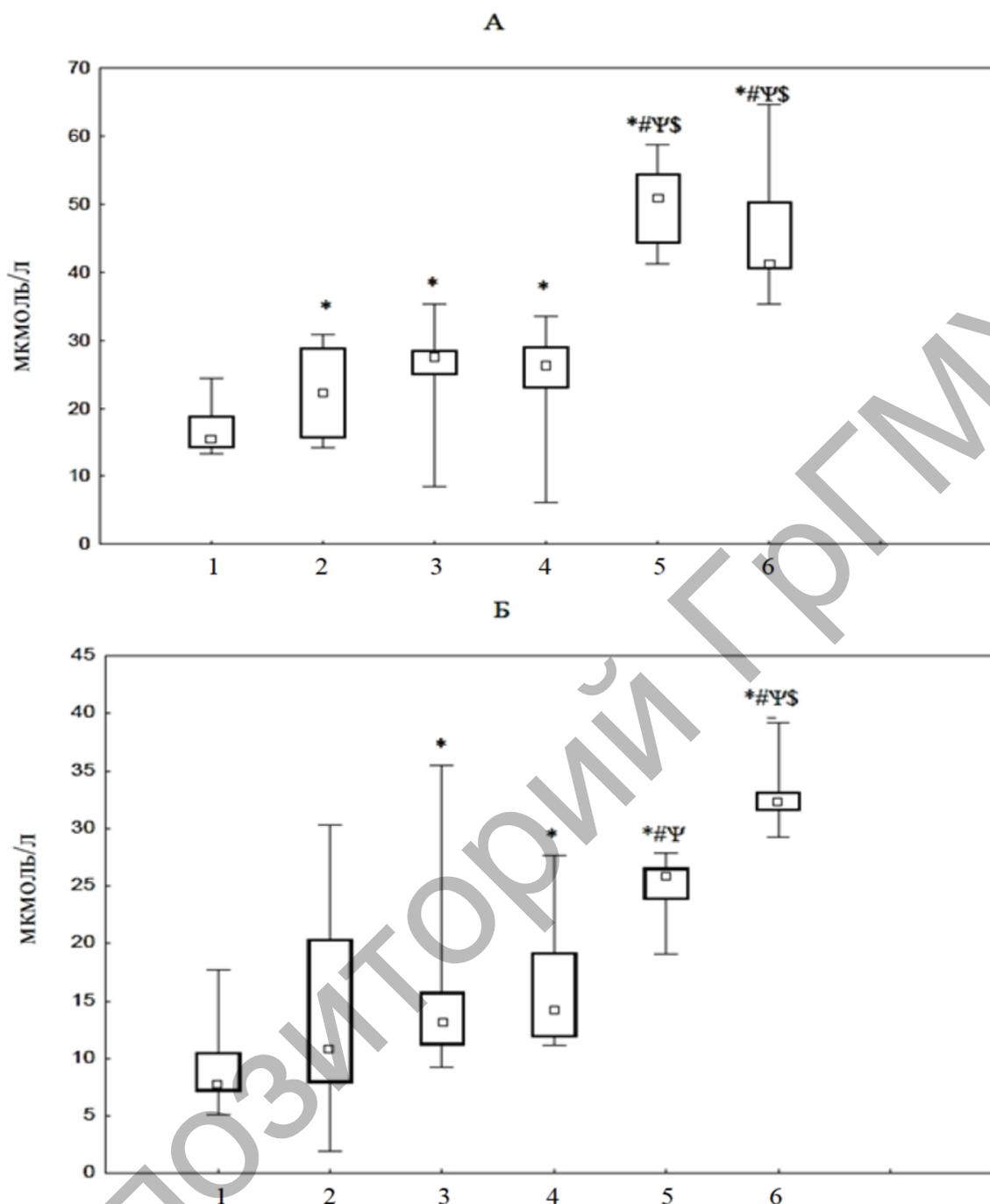
Примечание – \* – достоверные изменения в сравнении с контролем; # – с группой образцов гиперкапния; Ψ – с группой образцов озон; \$ – с группой образцов гиперкапния + озон; Ω – с группой образцов гиперкапния + нитроглицерин + озон.

Согласно представленным данным, инкубация крови с озонированным изотоническим раствором натрия хлорида способствует росту концентраций  $\alpha$ -токоферола, ретинола в плазме крови и активности каталазы в эритроцитарной массе в сравнении с контролем. В группах образцов «Гиперкапния + озон», «Гиперкапния + нитроглицерин + озон», «Гиперкапния + NaHS + озон» не наблюдается изменений данных параметров в сравнении с группой образцов, в которую добавляли только  $O_3$ . Обработка крови гиперкапнической газовой смесью не предотвращает эффект  $O_3$  по увеличению активности процессов ПОД и напряжению системы антиоксидантной защиты.

В условиях гипокапнии содержание NO и  $H_2S$  под действием  $O_3$  не изменяется (рисунок 4.9) в сравнении с группой экспериментальных образцов, в которую вводили только озон. Внесение нитроглицерина и NaHS в кровь, предварительно обработанную гипокапнической газовой смесью, приводят к росту  $NO_3^-/NO_2^-$  на 93,8% ( $p < 0,05$ ) и 57,1% ( $p < 0,05$ ) соответственно. Уровень  $H_2S$  повышается в этих группах на 82,13% ( $p < 0,05$ ) и 127,4% ( $p < 0,05$ ) соответственно в сравнении с группой образцов «Гипокапния + озон». Следует отметить, что наиболее выраженный рост  $NO_3^-/NO_2^-$  отмечается в группе образцов с нитроглицерином, а самый высокий уровень  $H_2S$  – в группе с NaHS.

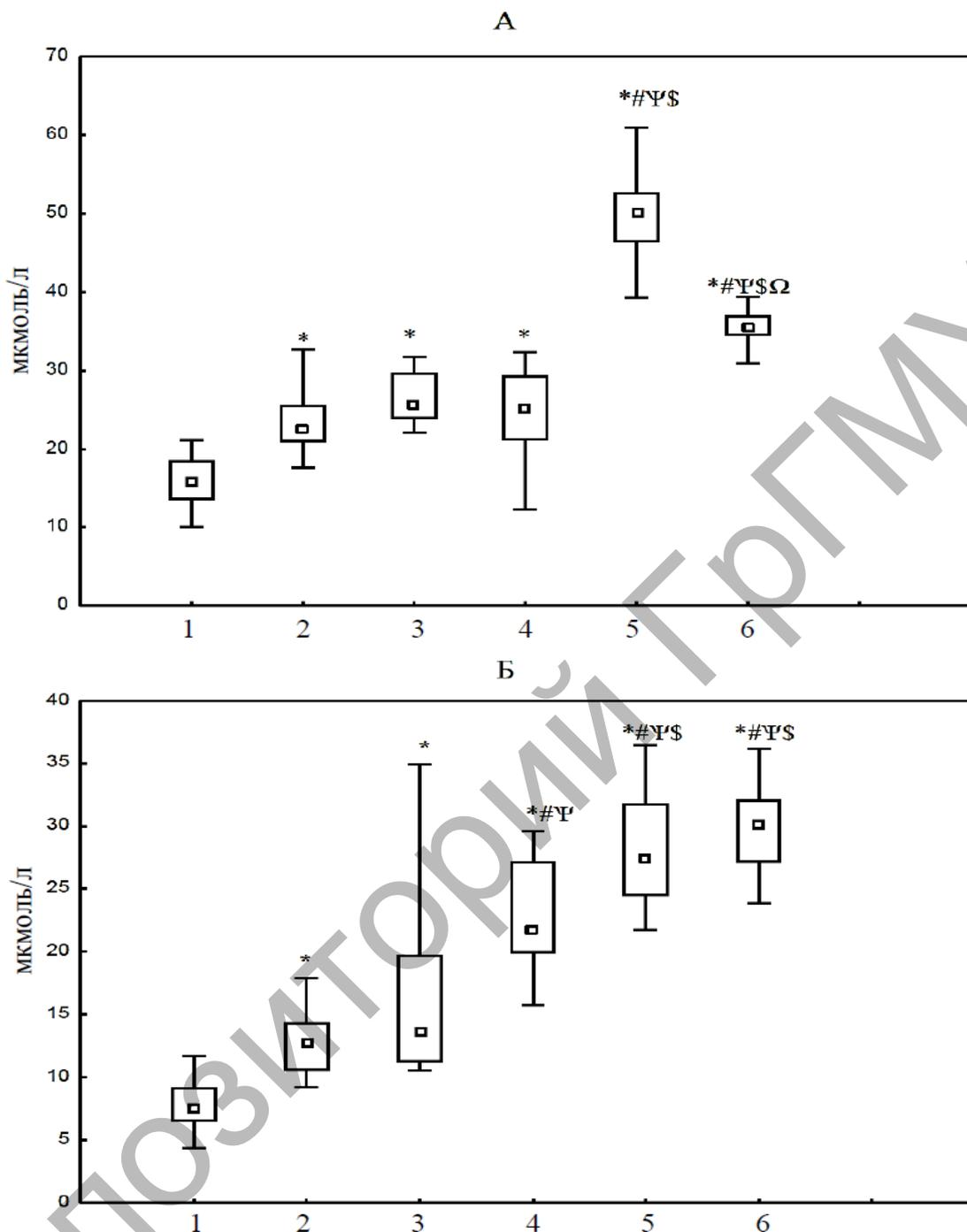
Предварительная обработка крови гиперкапнической газовой смесью и добавление  $O_3$  (рисунок 4.10) приводят к повышению уровня  $H_2S$  на 59,2% ( $p < 0,05$ ) в плазме крови без изменения содержания метаболитов NO в сравнении с группой образцов, в которую вводили только  $O_3$ . Добавление нитроглицерина и NaHS в заданных условиях вызывает рост  $NO_3^-/NO_2^-$  на 98,5% ( $p < 0,05$ ) и 40,7% ( $p < 0,05$ ) соответственно. Концентрация  $H_2S$  увеличивается в этих группах экспериментальных образцов на 25,9% ( $p < 0,05$ ) и 38,3% ( $p < 0,05$ ) соответственно в сравнении с группой «Гиперкапния + озон».

Сероводород и NO оказывают влияние на синтез друг друга, а также могут напрямую реагировать с образованием новых соединений ( $HSNO$ ,  $RSNOs$  и др.), которые в свою очередь модулируют их биологические эффекты [177, с. 38–39].



**Рисунок 4.9 – Концентрация нитрат/нитритов (А) и сероводорода (Б) плазме крови при гипокапнии**

Примечание – Контроль – 1, гипокапния – 2, озон – 3, гипокапния + озон – 4, гипокапния + нитроглицерин + озон – 5, гипокапния + NaHS + озон – 6; \* – достоверные изменения в сравнении контролем, # – с группой образцов гипокапния, Ψ – с группой образцов озон, \$ – с группой образцов гипокапния + озон, Ω – с группой образцов гипокапния + нитроглицерин + озон.



**Рисунок 4.10 – Концентрация нитрат/нитритов (А) и сероводорода (Б) в плазме крови под действием озона в гиперкапнических условиях**

Примечание – Контроль – 1, гиперкапния – 2, озон – 3, гиперкапния + озон – 4, гиперкапния + нитроглицерин + озон – 5, гиперкапния + NaHS + озон – 6; \* – достоверные изменения в сравнении с контролем, # – с группой образцов гиперкапния, Ψ – с группой образцов озон, \$ – с группой образцов гиперкапния + озон, Ω – с группой образцов гиперкапния + нитроглицерин + озон.

Таким образом, анализ полученных результатов указывает, что действие  $O_3$  при разных значениях  $pCO_2$  в условиях введения нитроглицерина и  $NaHS$  не оказывает существенного влияния на активность процессов свободнорадикального окисления липидов и состояние АОС. Доноры газотрансмиттеров при гипо/гиперкапнии способствуют повышению  $NO_3^-/NO_2^-$  и  $H_2S$  в плазме крови.

Обработка крови газовой смесью с высоким парциальным давлением кислорода в условиях добавления озона вызывает рост  $pO_2$ ,  $SO_2$ ,  $p50_{реал}$  и  $p50_{станд}$ . Внесение нитроглицерина увеличивает данный эффект. В гипероксических условиях озон способствует росту  $NO_3^-/NO_2^-$  и  $H_2S$  в плазме крови, добавление нитроглицерина и  $NaHS$  существенно увеличивает эти показатели. Гипероксия практически не влияет на ПОЛ. Нитроглицерин и  $NaHS$  в данных условиях увеличивают уровни ДК, МДА и активность каталазы в эритроцитарной массе. Обработка крови газовой смесью с низким парциальным давлением кислорода при добавлении озона уменьшает показатели кислородсвязывающих свойств крови ( $pO_2$ ,  $SO_2$ ,  $p50$ ) в сравнении с группой образцов, в которую вводили только озон. Внесение нитроглицерина препятствует проявлению данного эффекта. Добавление озона способствует росту содержания  $NO_3^-/NO_2^-$  и  $H_2S$  в заданных условиях, тогда как нитроглицерин и  $NaHS$  существенно увеличивают эти показатели. В крови, обработанной гипоксической газовой смесью при добавлении озона, а также в группе с нитроглицерином наблюдается уменьшение показателей ПОЛ (МДА, ДК) и антиоксидантной защиты (ретинола и  $\alpha$ -токоферола) в плазме крови.

Обработка гипокапнической газовой смесью увеличивает эффект озона на кислородсвязывающие свойства крови (повышаются значения  $pO_2$ ,  $SO_2$ ,  $p50_{реал}$ ,  $p50_{станд}$ , наблюдается сдвиг КДО вправо). Внесение нитроглицерина более выражено усиливает данный эффект озона и сопровождается ростом содержания  $NO_3^-/NO_2^-$  и  $H_2S$  в плазме крови. Введение натрия гидросульфида подобного действия не оказывает, несмотря на увеличение концентраций  $NO_3^-/NO_2^-$  и  $H_2S$  в плазме крови. В группе образцов «Гипокапния с озоном», а также при добавлении нитроглицерина

либо NaHS в данных условиях существенно не меняется состояние ПОЛ. Обработка крови газовой смесью с высоким парциальным давлением кислорода усиливает эффект озона на показатели кислородсвязывающих свойств крови, что проявляется в росте значений  $pO_2$ ,  $SO_2$ ,  $p50_{\text{реал}}$  и  $p50_{\text{станд}}$ , сдвиге КДО вправо. Внесение нитроглицерина и NaHS не вызывают значимых изменений данных параметров. Действие озона при гиперкапнии усиливает синтез  $H_2S$ . Добавление нитроглицерина и NaHS увеличивают концентрации  $NO_3^-/NO_2^-$  и  $H_2S$  в плазме крови. Гиперкапния при добавлении озона и введение используемых доноров газотрансмиттеров не приводит к значительным изменениям ПОЛ.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Озон используется в программах реабилитации пациентов, перенёсших коронавирусную инфекцию [178, с. 152], что связано с его положительным воздействием на функционирование разных систем организма, включающим бактерицидный, фунгицидный, вирулицидный, противовоспалительный, иммунокорректирующий и антигипоксический эффекты, подтверждённые клиническими и экспериментальными наблюдениями [179, с. 18–19]. Широко распространён вариант использования  $O_3$  посредством аутогемотерапии, основанной на заборе крови у пациента, насыщении её данным газом и последующем обратном введении в организм [180], однако механизмы действия  $O_3$  в этих условиях остаются нераскрытыми.

В организме СГК в значительной степени определяет диффузию  $O_2$  из альвеолярного воздуха в кровь, а затем на уровне капилляров в ткань [181, с. 545–546]. Сдвиг КДО вправо направлен на компенсирование кислородной недостаточности, а в условиях окислительного стресса, когда нарушена утилизация  $O_2$  тканями, влияет на активность процессов свободнорадикального окисления [182, с. 35–36]. Имеются единичные дискуссионные работы о непосредственном эффекте  $O_3$  на СГК. Так, воздействие  $O_3$  (1 или 3 промилле) на кровь не изменяет СГК и концентрацию 2,3-ДФГ в эритроцитах [183]. Однако при обследовании пациентов с периферической окклюзией артерий озонированная аутогемотрансфузия (реинфузии 100 мл аутологичной крови, предварительно подвергнутой воздействию  $O_3$  в течение 10 мин), повышала значение  $p50_{\text{станд}}$ , тогда как уровень 2,3-ДФГ существенно не изменялся [184]. Использование  $O_3$  *in vitro* (концентрация 6, 5, 13, 26, 78 мкг/л) с кровью, взятой у пациентов с облитерирующим атеросклерозом сосудов (стадия II–IV по классификации Фонтане) и сахарным диабетом второго типа, приводит к снижению СГК [185]. Применение данного фактора при кровопотере у крыс повышает активность  $Na^+/K^+$ -АТФазы, что обусловлено развитием компенсаторных процессов за счёт роста концентрации 2,3-ДФГ и снижения концентрации АТФ [89].

В нашем исследовании установлено, что инкубация крови с озонированным изотоническим 0,9% раствором NaCl, в котором концентрация O<sub>3</sub> составляла 2 мг/л, 6 мг/л, 10 мг/л, в течение 30 и 60 мин способствует изменениям кислородсвязывающих свойств крови [186, 187]. При максимальной концентрации (10 мг/л) наблюдается наибольший прирост pO<sub>2</sub>. Показатель значения СГК p50<sub>реал</sub> при воздействии данным газом возрастает. При концентрации озона 2 мг/л отмечается его увеличение до 31,6 [28,6; 36,1] (p<0,05) мм рт. ст. (при экспозиции 30 мин) и до 32,2 [28,5; 37,9] (p<0,05) мм рт. ст. (при экспозиции 60 мин) в сравнении с контролем. С увеличением концентрации O<sub>3</sub> наблюдается уменьшение СГК, что способствует большей степени сдвига КДО вправо.

Использование O<sub>3</sub> демонстрирует широкую вариабельность его эффектов, что может быть обусловлено различием в дозах и условиях, в которых он вводится. Активация метаболизма организма наблюдается даже при введении очень низких доз O<sub>3</sub>, которое сопровождается повышением содержания в крови O<sub>2</sub>, интенсификацией активности ферментов, катализирующих аэробные процессы окисления углеводов, липидов и белков с образованием энергетического субстрата АТФ [188, с. 113–114]. Озон обладает выраженным противогипоксическим эффектом за счёт улучшения реологических свойств крови, повышения отдачи оксигемоглобином кислорода тканям и увеличения скорости микроциркуляции [189, с. 510–511]. Сеанс озонотерапии у пациентов с комплексной патологией не только непосредственно после процедур, но и в течение двух месяцев после курса приводит к снижению микровязкости мембран, минимизирует прочность агрегатов и скорость спонтанной агрегации эритроцитов с возрастанием их деформируемости [190].

Согласно данным, полученным в нашем исследовании, действие O<sub>3</sub> увеличивает содержание NO и H<sub>2</sub>S в плазме крови, что имеет значение для модификации кислородсвязывающих свойств крови [186, 187]. Наблюдается рост NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NO<sub>2</sub><sup>-</sup> в плазме крови в группе с концентрацией озона 10 мг/л на 94,3% (p<0,05) в сравнении с контролем, а уровень H<sub>2</sub>S увеличивается на 71,1% (p<0,05).

Механизм выявленной нами модификации СГК связан с изменением содержания таких газотрансмиттеров, как NO и H<sub>2</sub>S. Газотрансмиттеры представляют собой класс физиологически активных веществ, выполняющих в клетках сигнальную функцию и с высокой специфичностью участвующих в межклеточной и внутриклеточной коммуникации [191, с. 30]. Эффект O<sub>3</sub> на СГК реализуется как непосредственно через влияние на механизмы синтеза H<sub>2</sub>S и L-аргинин-NO систему, так и через модификацию функциональных свойств гемоглобина. NO является аллостерическим эффектором СГК [191, с. 31–33]. Образованные им при взаимодействии с гемопротеидом метгемоглобин и нитрозогемоглобин повышают его сродство к кислороду, а нитрозилгемоглобин его снижает. Наблюдаемый рост NO, H<sub>2</sub>S, несомненно, оказывает влияние на изменение кислородсвязывающих свойств крови.

Действие озона приводит к увеличению уровня МДА, ДК, а также активации АОС, что подтверждается ростом активности каталазы в эритроцитарной массе, концентраций ретинола и α-токоферола в плазме крови [192]. Известна способность O<sub>3</sub> активировать процессы ПОЛ в ходе окисления биологических субстратов, что по механизму обратной связи стимулирует антиоксидантную защиту организма [189, с. 510–511]. Отмечающиеся нарушения прооксидантно-антиоксидантного баланса при воздействии высоких концентраций O<sub>3</sub> вызывают развитие окислительного стресса, тогда как при низких концентрациях это не приводит к росту образования свободных радикалов [193]. Кроме того, данный газ воздействует на кислородозависимые процессы организма: способен стимулировать газообмен путём оптимизации утилизации O<sub>2</sub>, повышать энергетическую эффективность тканевых окислительных процессов (отмечается интенсификация активности ферментов, катализирующих аэробные процессы окисления углеводов, липидов и белков с образованием АТФ).

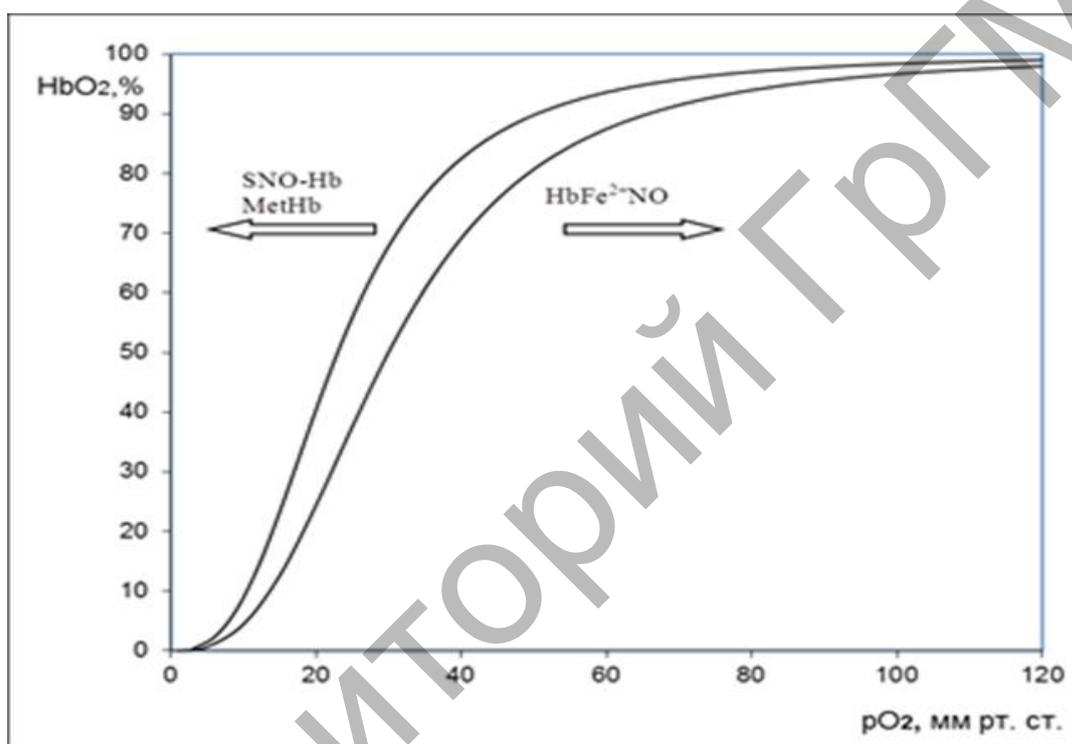
На следующем этапе эксперимента нами выявлено, что применение нитроглицерина в условиях воздействия на NO-генерирующую систему приводит к усилению эффекта O<sub>3</sub> с концентрацией 6 мг/л (время экспозиции 30 мин)

на кислородсвязывающие свойства крови. Внесение нитроглицерина увеличивает значения  $pO_2$  на 24,5% ( $p < 0,05$ ),  $SO_2$  – на 14,1% ( $p < 0,05$ ), показатель  $p50_{\text{реал}}$  – на 13,9% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с группой экспериментальных образцов, получавшей только  $O_3$ . Добавление L-аргинина, L-NAME и их комбинации к образцам крови не меняет исследуемых параметров. В этом аспекте важно отметить, что нитроглицерин, согласно полученным нами результатам, усиливает эффект  $O_3$  на СГК, а также на  $pO_2$  и  $SO_2$ , что предполагает участие NO-зависимых механизмов внутриэритроцитарной системы в формировании кислородсвязывающих свойств крови [194].

Озон может оказывать влияние на синтез NO разными путями, в частности за счёт усиления экспрессии белков теплового шока [195, с. 103]. Внесение нитроглицерина способствует росту концентрации NO и  $H_2S$  в плазме крови [194]. Так, при добавлении данного препарата в заданных условиях концентрация нитрат/нитритов существенно увеличивается на 183,5% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с группой, в которую вводили только  $O_3$ . Добавления нитроглицерина и L-аргинина приводят к росту  $H_2S$  (на 35,3% и 41,6% соответственно,  $p < 0,05$ ) в плазме крови [194].

Выявленный нами эффект  $O_3$  на СГК реализуется как непосредственно через воздействие на экспрессию NO-синтазы в эритроцитах, так и через модификацию функциональных свойств гемоглобина. Следует отметить, что при действии  $O_3$  отмечается рост концентрации  $H_2S$ , который усиливается при добавлении нитроглицерина. NO, CO и  $H_2S$  участвуют в защите организма от окислительного стресса, вызванного активными формами кислорода, азота [177, с. 38–39], и выполняют роль аллостерических эффекторов функциональных свойств гемоглобина, которые изменяют его сродство к кислороду, оказывая влияние на транспорт  $O_2$  [191, с. 31–38] (рисунок 1). Озон уменьшает СГК, реализуя своё действие через участие NO и  $H_2S$  (повышение концентрации нитрат/нитритов и сероводорода). Изменения функциональной активности форменных элементов под действием  $O_3$  обусловлены перестройкой внутриклеточной организации. Известно, что эритроциты имеют структуры, обеспечивающие синтез NO и  $H_2S$  непосредственно в данных клетках [196].

Действие  $O_3$  изменяет конформацию макромолекул, липопротеидных комплексов мембран эритроцитов, модифицируя их функциональные свойства, в частности, через NO-ергические механизмы и через сероводород/цистеин/цистиновый путь. Сероводород может связываться с метгемоглобином, образуя сульфгемоглобин [197], который совместно с NO-производными гемоглобина способен изменять положение КДО. Эффект газотрансмиттеров на положение кривой диссоциации оксигемоглобина представлен на рисунке 1 [198].



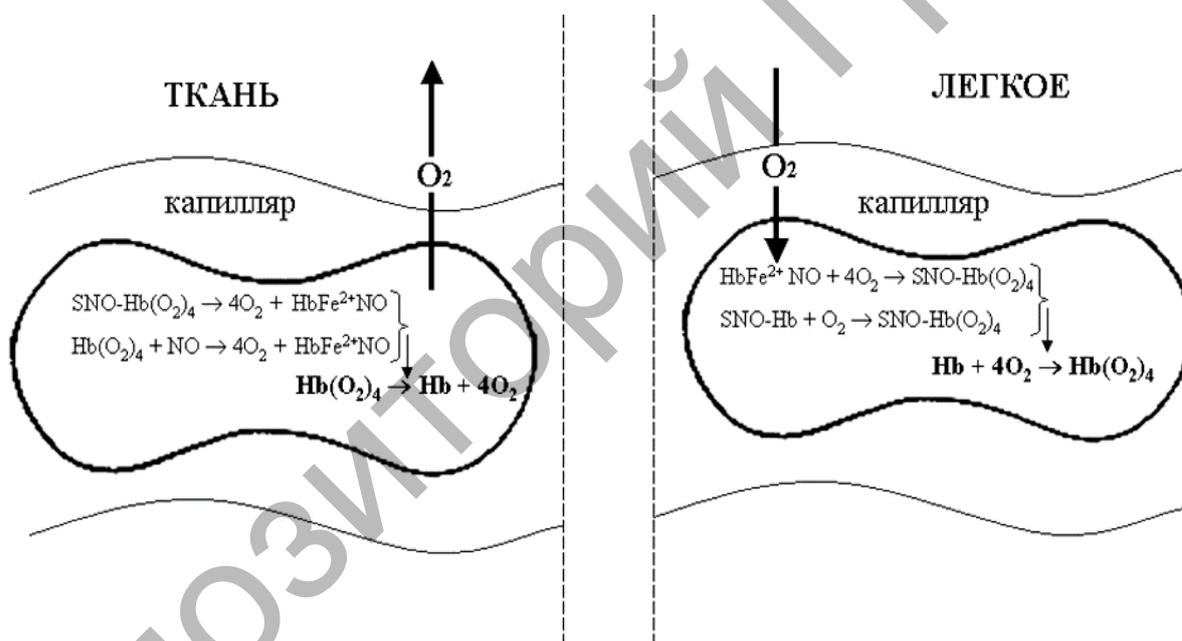
**Рисунок 1 – Эффект газотрансмиттеров на положение кривой диссоциации оксигемоглобина**

Примечание – MetHb – метгемоглобин, SNO-Hb – нитрозогемоглобин; HbFe<sup>2+</sup>NO – нитрозилгемоглобин, SulfHb- сульфгемоглобин [198].

Участие NO-зависимых механизмов внутриэритроцитарной системы в изменении кислородсвязывающих свойств крови при действии  $O_3$  подтверждается результатами нашего исследования, в котором показано уменьшение SGK при введении нитроглицерина и отсутствие сдвига КДО при введении ингибитора фермента NO-синтазы (L-NAME) [194].

В ходе одного цикла движения эритроцита в сосудистой системе происходят последовательные реакции гемоглобина

с NO, модулирующиеся его структурными переходами из R- в T-состояние. На уровне капилляров малого круга кровообращения это может быть дополнительным механизмом, способствующим оксигенации крови, а на уровне микроциркуляции большого круга – оптимизирующим десатурацию крови и, соответственно, доставку кислорода в ткани. В капиллярах лёгкого осуществляется зависимый от O<sub>2</sub> аллостерический переход гемоглобина (T→R), обусловленный переносом NO-группы с гема на β<sup>93</sup>-цистеин, соответственно в артериальное русло поступает молекула SNO-Hb(O<sub>2</sub>)<sub>4</sub>. В капиллярах большого круга кровообращения осуществляется обратный переход (R→T) с высвобождением NO, который инициирует сосудистую дилатацию, либо высвобождение O<sub>2</sub>, с последующей оксигенации тканей и образованием HbFe<sup>2+</sup>NO, который может влиять и на SGK (рисунок 2) [199].



**Рисунок 2 – Механизм влияния NO на процессы оксигенации и десатурации крови в капиллярах малого и большого круга кровообращения [199]**

В условиях модуляции образования NO показатели ПОЛ (МДА, ДК) и антиоксидантной защиты (каталаза, ретинол, α-токоферол) существенно не изменились [194]. Под влиянием O<sub>3</sub> происходит активация процессов свободнорадикального окисления, что приводит к запуску механизмов антиоксидантной защиты [200, 190]. Высокие дозы O<sub>3</sub> в эксперименте на крысах

вызывают повреждение лёгких, однако после введения L-аргинина отмечается ингибирование активности миелопероксидазы базофильных гранул нейтрофилов, тогда как при добавлении L-NAME данный эффект отсутствует [107]. Внутривенное введение  $O_3$  (концентрация 1 мг/кг) в условиях ишемического повреждения тонкой кишки приводит к росту активности супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы [201, с. 664].

Результаты следующей серии демонстрируют, что в условиях воздействия на  $H_2S$ -генерирующую систему ингибитор синтеза сероводорода пропаргилглицин уменьшает эффект  $O_3$  на кислородсвязывающие свойства крови и снижает  $pO_2$  и  $SO_2$ . Показатель СГК  $p50_{реал}$  при этом уменьшается на 13,6% ( $p < 0,05$ ) [202]. При добавлении NaHS данные параметры не изменяются, но его комбинация с нитроглицерином приводит к их увеличению. Форменные элементы крови, прежде всего эритроциты, а также компоненты плазмы принимают активное участие в метаболизме  $H_2S$ , контролируя его концентрацию [163, с. 2]. Эта сигнальная молекула при участии гемоглобина метаболизируется в данных клетках с образованием тиосульфатов и гидрополисульфидов, участвующих в биосигнализации [205].

Газотрансмиссер  $H_2S$  задействован в реализации эффекта  $O_3$  на СГК [202]. Как известно,  $H_2S$  участвует в окислительной модификации белковых молекул посредством сульфгидрации через  $H_2S$ -опосредованное окисление цистеина до персульфидов, способствуя их химической реорганизации [206, с. 74]. Кроме того,  $H_2S$  активирует дисфосфоглицератмутазу, стимулирующую синтез 2,3-ДФГ и уменьшающую СГК [207, с. 2]. Взаимодействие гемоглобина с данным газом также приводит к образованию сульфгемоглобина, который снижает СГК [196].  $H_2S$ , в отличие от NO, действует не как типичная сигнальная молекула, однако, взаимодействуя с ним, может выступать медиатором NO-сигнальной активности [208, с. 439–440].  $H_2S$  в комбинации с донором NO (нитроглицерином) увеличивает эффект  $O_3$  на показатели кислородсвязывающих свойств крови [202]. Комбинированная обработка донорами NO и  $H_2S$  обеспечивает необходимую NO-сигнальную активность за счёт образования динитрозильных комплексов железа с персульфидными лигандами в клетке [208, с. 439–440]. Молекула NO взаимодействует с цистеином,

преобразуя его пространственную структуру и увеличивая энергию химических связей. Также эндогенный сероводород может влиять на различные изоформы NO-синтазы, приводя к взаимному усилению физиологических эффектов [206, с. 73].

В нашем исследовании пропаргилглицин уменьшает уровень нитрат/нитритов в плазме крови в условиях действия озона, а натрия гидросульфид приводит к их росту [202]. Механизм данного явления основан на усилении фосфорилирования конститутивной изоформы NO-синтазы с последующим увеличением продукции NO [209, с. 1299]. Кроме того, стоит подчеркнуть, что  $H_2S$  опосредует восстановление нитритов до NO через ксантиноксидазу [210, с. 14]. Полученные нами данные демонстрируют рост  $H_2S$  в плазме крови при добавлении комбинации NaHS и нитроглицерина. NaHS увеличивает уровень  $H_2S$  на 64,5%, ( $p < 0,05$ ). Пропаргилглицин не изменяет параметры прооксидантно-антиоксидантного баланса, а доноры NO и  $H_2S$  увеличивают активность каталазы в эритроцитарной массе [202]. Сульфгидрация, опосредованная  $H_2S$ , представляет собой защитный механизм в условиях окислительного стресса и не приводит к снижению продуктов ПОЛ. Согласно данным Голубкиной и соавт. [206, с. 75], генерация  $H_2S$  в естественных условиях может быть недостаточной для обеспечения прямого антиоксидантного ответа, что предполагает участие иных механизмов, исходя из наших данных, индуцированных действием  $O_3$  [202]. В то же время в проведённом нами исследовании наблюдается увеличение активности каталазы в эритроцитарной массе при введении NaHS и его комбинации с нитроглицерином, что может быть связано с усилением образования производных NO, синтез которых создаёт условия для поддержания окислительно-восстановительного баланса и сохранения целостности клеточной мембраны [47].

Следующий этап нашего исследования выявил участие именно эритроцитов в эффекте  $O_3$  на кислородсвязывающие свойства крови, что проявляется ростом  $pO_2$ ,  $SO_2$  в эритроцитарной суспензии при добавлении  $O_3$ ; отмечается сдвиг КДО вправо. Добавление донора NO нитроглицерина усиливает эффект данного газа на показатели транспорта кислорода суспензии эритроцитов, а введение донора  $H_2S$  не приводит к подобным изменениям [203].

Эритроциты содержат конститутивную изоформу NO-синтазы, которая продуцирует NO [211, с. 11467]. 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, обеспечивая свободный пул NO [212, с. 866]. Полученные нами результаты показывают, что добавление экзогенного донора NO нитроглицерина усиливает влияние O<sub>3</sub> на кислородсвязывающие свойства эритроцитарной суспензии, в то время как донор H<sub>2</sub>S натрия гидросульфид данным эффектом не обладает. Высвобождение NO из эритроцитов регулируется уровнем pO<sub>2</sub> в крови [213, с. 2519], а добавление O<sub>3</sub> способствует росту данного параметра. Согласно полученным нами данным, непосредственно эритроциты реагируют на действие O<sub>3</sub>, и этот ответ проявляется при участии газотрансмиттеров независимо от лейкоцитов и тромбоцитов.

Добавление O<sub>3</sub> в эритроцитарную суспензию увеличивает концентрации МДА и ДК, при этом нитроглицерин и NaHS повышают рост активности каталазы на 46,1% (p<0,05) и 43,8% (p<0,05) соответственно в сравнении с группой экспериментальных образцов «Эритроцитарная суспензия + O<sub>3</sub>» [203]. Воздействие O<sub>3</sub> на систему крови приводит к образованию АФК, вызывая активацию процессов ПОЛ клеточных мембран и развитие окислительного стресса [214, с. 4]. Постоянное воздействие на эритроциты множества различных оксидантов способствует формированию у них мощной системы внутриклеточной антиоксидантной защиты [215, с. 2]. В иерархии данных процессов особое место занимают газотрансмиттерные механизмы. В мембранной фракции эритроцитов O<sub>3</sub> как источник кислорода реагирует с NO, приводя к образованию сильнодействующего окислителя пероксинитрита [216, с. 13–15]. Последующее окисление метгемоглобина пероксинитритом может привести к синтезу глобиновых радикалов, которые усиливают прооксидантную активность в эритроцитах [217, с. 2274]. В свою очередь NO и H<sub>2</sub>S также способны влиять на метаболизм антиоксидантов за счёт газотрансмиттерных ферментов

и продуктов их реакций [218, с. 15]. Данная особенность отмечается в группах с нитроглицерином и  $H_2S$ , в которых наблюдается увеличение активности каталазы в сравнении с группой образцов «Эритроцитарная суспензия + озон».

Представляется важным оценить особенности влияния  $O_3$  на кислородсвязывающие свойства крови при разных значениях  $pO_2$  и  $pCO_2$ . В ходе следующего этапа исследования обнаружено, что гипероксия усиливает влияние  $O_3$  на кислородсвязывающие свойства крови. Внесение натрия гидросульфида и нитроглицерина увеличивают данный эффект (особенно нитроглицерин), так как он приводит к росту значений  $pO_2$  и  $SO_2$  на 25,9% ( $p < 0,05$ ) и 23,2% ( $p < 0,05$ ) соответственно, показателя  $p50_{реал}$  – на 24,5% ( $p < 0,05$ ). Отмечается участие газотрансмиттеров в изменениях кислородсвязывающих свойств крови при воздействии  $O_3$  в гипероксических условиях. В группе экспериментальных образцов «Гипероксия + озон» наблюдается рост содержания  $NO_3^-/NO_2^-$  и  $H_2S$  в плазме крови, добавление нитроглицерина и натрия гидросульфида более выражено увеличивает эти показатели. Предварительная гипероксия под действием  $O_3$  повышает содержание  $NO_3^-/NO_2^-$  и  $H_2S$  в плазме крови на 24,7% ( $p < 0,05$ ) и 38,1% ( $p < 0,05$ ) соответственно по сравнению с группой, в которую вводили только озон. Внесение нитроглицерина в условиях гипероксии способствует возрастанию концентрации  $NO_3^-/NO_2^-$  на 97,9% ( $p < 0,05$ ) и  $H_2S$  на 59,9% ( $p < 0,05$ ) в плазме крови [204]. Эритроциты за счёт экспрессии каталитически активной синтазы монооксида азота (NOS3 типа 1), которая идентична экспрессируемой в эндотелии, индуцируют синтез  $NO$  [219, с. 724]. Эта субстанция – мощный митохондриальный регулятор, снижающий сродство к кислороду цитохром-с-оксидазы (терминального акцептора электронов митохондриальной цепи транспорта электронов) [220, с. 2]. Эритроциты участвуют в поддержании кислородозависимого баланса между образованием и окислением  $H_2S$  за счёт способности генерировать данный газотрансмиттер [221, с. 327].

Предварительная гипероксия существенно не меняет состояния прооксидантно-антиоксидантного баланса, а добавление нитроглицерина и  $NaHS$  в данных условиях способствует

увеличению ДК, МДА, активности каталазы [204]. 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 [222], а у пациентов с бессонницей и ишемической болезнью сердца озонотерапия способствует росту каталазы [223]. В условиях гипероксии при действии  $O_3$  и добавлении нитроглицерина отмечается рост МДА и ДК, тогда как NaHS подобного эффекта не оказывает [204]. Изоформы NO рассматривают как динамические датчики клеточного окислительного стресса и регуляторы редокс-гомеостаза. Механизм положительного влияния озонотерапии проявляется повышением активности антиоксидантных ферментов сыворотки крови [224, с. 4–5]. В нашем эксперименте добавление нитроглицерина и NaHS в условиях оксигенации приводит к росту активности каталазы в эритроцитарной массе.

В следующей серии экспериментов выявлено, что предварительная гипоксия ослабляет влияние  $O_3$  на кислородсвязывающие свойства крови, а нитроглицерин препятствует проявлению данного эффекта. Гипоксия снижает эффект  $O_3$  на показатели  $pO_2$  и  $SO_2$  в сравнении с группой, в которой выполнялось только озонирование,  $p50_{\text{реал}}$  при этом уменьшается на 14,57% ( $p < 0,05$ ) [225]. При гипоксии наблюдается ухудшение процессов тканевого транскапиллярного обмена  $O_2$ , снижение возможностей микроциркуляторного русла для доставки его в ткани [226, с. 21–22]. Выявлены функциональные взаимосвязи различных компонентов регуляции микрогемодинамики и показателей кислородсвязывающих свойств крови при проведении гипоксического теста [227, с. 400]. Озон значительно улучшает микроциркуляцию за счёт повышения функциональной активности капилляров, изменения физико-химических характеристик крови и, в частности, её кислородсвязывающих свойств [91]. Согласно полученным нами данным, отмечаются изменения кислородсвязывающих свойств крови под влиянием  $O_3$  в гипоксических условиях и при добавлении доноров газотрансмиттеров.

Действие  $O_3$  в гипоксических условиях приводит к росту содержания  $NO_3^-/NO_2^-$  и  $H_2S$  в плазме крови, а добавление

нитроглицерина и NaHS увеличивает эти показатели [225]. NO обеспечивает адаптацию организма к изменениям  $pO_2$  через влияние на механизмы формирования функционального статуса эритроцитов [148, с. 624]. Кроме того, данный газотрансмиттер является основным регулятором тонуса сосудов и ангиопротектором, что обуславливает его влияние на локальную микроциркуляцию [209]. Описаны сложные взаимоотношения между  $O_3$  и группой ферментов NO-синтаз, генерирующих образование NO [90]. Озон может активировать индуцибельную изоформу синтазы оксида азота, что приводит к росту концентрации NO [148, с. 622], а также восстанавливает  $NO_2^-$  при низких значениях pH [228, с. 72]. В этих механизмах участвует и другой газотрансмиттер –  $H_2S$ . Эритроциты продуцируют эндогенный  $H_2S$ , используя в качестве субстрата 3-меркаптопируват [229, с. 67]. Продукция  $H_2S$  в данных клетках зависит от уровня NO в сыворотке крови [230, с. 3693]. Гипоксические условия под влиянием  $O_3$  приводят к уменьшению показателей ПОЛ (МДА, ДК), а также снижению уровней ретинола и  $\alpha$ -токоферола, в том числе в группе с нитроглицерином [225].  $H_2S$  выполняет и антиоксидантные функции за счёт модификаций активности ферментов, в частности каталазы [231, с. 1387].

Результаты следующей серии исследования демонстрируют, что предварительная обработка крови гипокапнической газовой смесью существенно увеличивает эффект  $O_3$  на кислородсвязывающие свойства крови. Внесение нитроглицерина в этих условиях приводит к усилению эффекта данного газа и характеризуется ростом  $pO_2$  на 17,8% ( $p < 0,05$ ),  $SO_2$  – на 9,8% ( $p < 0,05$ ),  $p50_{реал}$  возрастает на 3,2% ( $p < 0,05$ ) в сравнении с группой «Гипокапния + озон» [232].

По характеру изменений pH и  $pCO_2$  можно было предположить, что вследствие эффекта Бора [1, с. 6] произойдёт сдвиг КДО влево, однако полученные нами результаты свидетельствуют об обратном. Снижение концентрации ионов водорода и  $pCO_2$  существенно уменьшает аффинность крови к  $O_2$ , что затрудняет поступление его в ткани на уровне капилляров большого круга кровообращения (эффект Бора). В ряде работ показано, что гипокапния содействует увеличению концентрации

2,3-ДФГ в эритроцитах [234, 235]. Кроме того, известно, что гипокапнические условия усиливают генерацию синтеза  $O_3$  [236], эффекты которого проявляются дозозависимо. Следует отметить, что способность пероксинитрита в гипокаптической среде увеличивать значения показателей СГК ( $p50_{\text{реал}}$  и  $p50_{\text{станд}}$ ) в сравнении с контрольной группой [150, с. 121] свидетельствует о существенном вкладе NO в регуляцию транспорта  $O_2$  кровью [148, с. 622–623]. Вероятно, перечисленные факты способствуют усилению эффекта  $O_3$  в заданных условиях.

Добавление нитроглицерина в этих условиях приводит к ещё более выраженному усилению эффекта  $O_3$  на кислородсвязывающие свойства крови, сопровождающегося ростом содержания  $NO_3^-/NO_2^-$  и  $H_2S$  в плазме крови. Натрия гидросульфид подобного действия на кислородсвязывающие свойства крови не оказывает, несмотря на увеличение концентраций  $NO_3^-/NO_2^-$  и  $H_2S$ . Внесение нитроглицерина и NaHS в условиях гипокапнии способствует росту  $NO_3^-/NO_2^-$  и  $H_2S$  [232]. Биоактивность NO сохраняется в эритроцитах благодаря его взаимодействию с цистиолами в гемоглобине с образованием S-нитрозотиола, S-нитрозогемоглобина [237], высвобождение которых происходит при уменьшении СГК [231, с. 24]. В гипокаптических условиях добавление  $O_3$  приводит к увеличению содержания производных NO, а добавление нитроглицерина (донора NO) усиливает данный эффект [232]. Озон также способствует увеличению уровня NO, активируя механизмы его образования в эритроците [47]. В ответ на действие  $O_3$  в данных клетках происходит изменение образования не только NO, но и  $H_2S$ , что влечёт как модификацию непосредственно свойств гемоглобина, так и опосредованно через гемоглобин-независимые механизмы оказывает влияние на структурную организацию эритроцитарной мембраны. В этот процесс могут вовлекаться и молекулы  $CO_2$ .

В следующей серии исследования нами установлено, что гиперкапния усиливает эффект  $O_3$  на кислородсвязывающие свойства крови и характеризуется сдвигом КДО вправо, однако в этих условиях нитроглицерин и NaHS не изменяют параметры газотранспортной функции крови, а гиперкапния усиливает эффект  $O_3$  [233]. Повышение концентрации ионов водорода

и  $p\text{CO}_2$  существенно снижает аффинность крови к  $\text{O}_2$ , что изменяет поступление его в ткани на уровне капилляров большого круга кровообращения. В проведённых нами исследованиях снижение  $p\text{H}$  и рост  $p\text{CO}_2$  усиливают влияние  $\text{O}_3$  на показатели кислородсвязывающих свойств крови, проявляющееся в более выраженном сдвиге КДО вправо. Механизмы внутриэритроцитарной регуляции СГК реализуются на разных уровнях: изменение структурной организации эритроцитов, моделирующее действие аллостерических эффекторов на молекулу гемоглобина.  $\text{NO}$  и  $\text{H}_2\text{S}$  в ряде случаев могут обладать синергичным действием, но в опытах при гиперкапнии этого не наблюдается. Отмечается рост содержания  $\text{H}_2\text{S}$  при отсутствии изменения активности L-аргинин- $\text{NO}$  системы, не ведущей к увеличению концентрации  $\text{NO}$ , а предварительная гиперкапния с добавлением  $\text{O}_3$  вызывает рост уровня сероводорода [233], что в этих условиях может быть связано с повышением продукции 3-меркаптопируват-сульфуртрансферазы [172, с. 21], которая способствует синтезу  $\text{H}_2\text{S}$  в эритроцитах [229, с. 67]. Предварительная гиперкапния и введение  $\text{O}_3$  приводят к увеличению уровня  $\text{H}_2\text{S}$  на 59,21% ( $p < 0,05$ ) без изменения содержания метаболитов  $\text{NO}$  в сравнении с группой, в которую вводили только озон. Заслуживает внимания тот факт, что наиболее выраженный рост нитрат/нитритов отмечается в группе с нитроглицерином, а самый высокий уровень  $\text{H}_2\text{S}$  – в группе с  $\text{NaHS}$ . Однако в группе с  $\text{NaHS}$  не отмечается изменений содержания нитрат/нитритов, что, возможно, связано с участием эритроцитарной карбоангидразы в регулировании их распределения между плазмой и эритроцитами в этих условиях [238, с. 31–32]. При добавлении нитроглицерина и  $\text{NaHS}$  наблюдается рост  $\text{NO}$  и  $\text{H}_2\text{S}$ , что обусловлено их взаимно сопряжённым влиянием на синтез друг друга [177, с. 38–39].

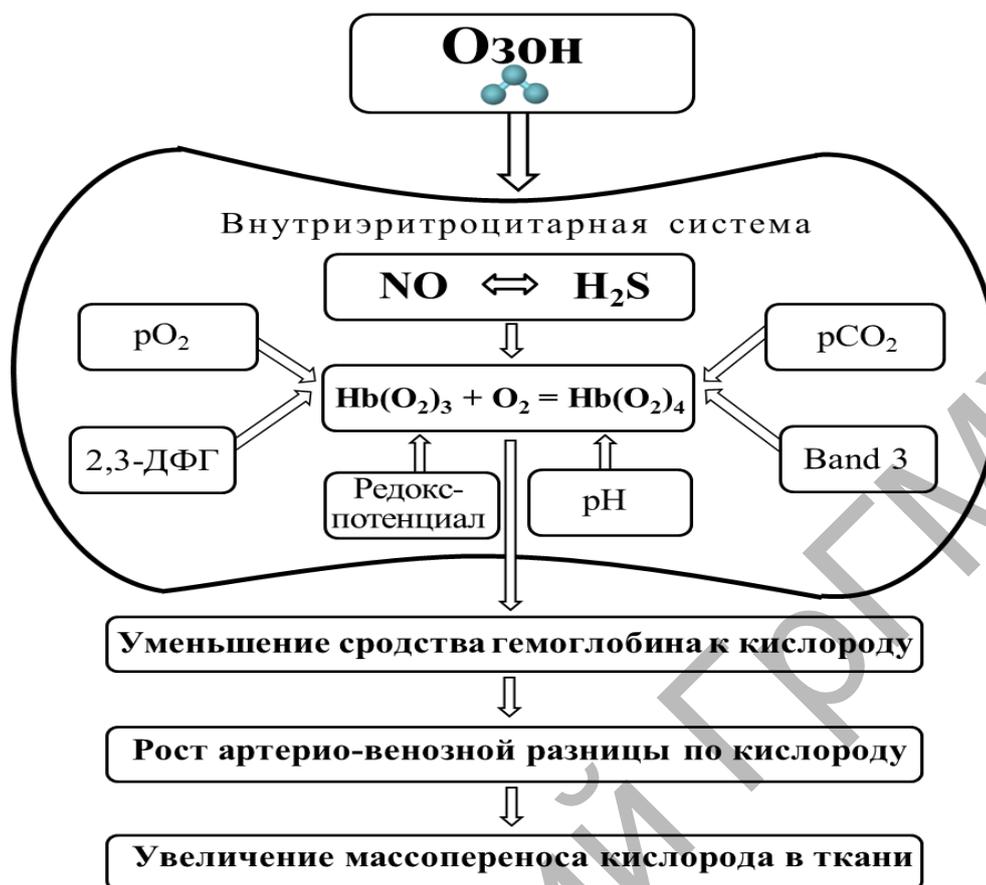
Предварительная гиперкапния не устраняет воздействие  $\text{O}_3$  на процессы свободнорадикального окисления, доноры газотрансмиттеров также не изменяют исследуемые параметры. Значимый рост МДА, ДК в группах экспериментальных образцов с  $\text{O}_3$  свидетельствует об активации процессов ПОЛ, что отражает определённый риск при применении  $\text{O}_3$  в качестве

терапевтического средства. Следовательно, гиперкапния не устраняет активирующего действия данного газа на процессы перекисидации липидов, а нитроглицерин и натрия гидросульфид усугубляют его [233]. Напряжение механизмов антиоксидантной защиты, судя по повышению концентраций ретинола и  $\alpha$ -токоферола, очевидно, связано с их высвобождением из эритроцитарной мембраны и является следствием окислительного повреждения, вызванного  $O_3$  [157]. В то же время отмечается рост активности каталазы при добавлении  $O_3$ . Данный газ влияет на ферментативный компонент АОС эритроцитов, обеспечивающий защиту от АФК [165, с. 365], при нейтрализации которых образуется пероксид водорода, что и приводит к возрастанию активности каталазы [239].

Проведённые нами исследования демонстрируют эффект  $O_3$  на кислородсвязывающие свойства на уровне эритроцитарного звена системы крови, который реализуется за счёт модификации внутриэритроцитарной системы регуляции SGK, что позволяет обеспечивать потребности аэробного обмена на регионарном и системном уровнях (рисунок 3).

Модификация SGK достигается в результате перестроек в мембранной организации эритроцитов (Band 3), изменения их метаболизма, ионного состава, действия ряда модуляторов (2,3-ДФГ, глутатиона и др.), а также за счёт эффектов Бора и Холдейна. Согласно полученным нами данным, в адаптивных изменениях функциональных свойств гемоглобина при действии  $O_3$  участвует система газотрансмиттеров при разных значениях  $pO_2$  и  $pCO_2$ .

Таким образом, полученные нами результаты свидетельствуют, что воздействие  $O_3$  на кровь оказывает существенное влияние на регуляцию механизмов, ответственных за формирование кислородного гомеостаза. Выявленные изменения кислородсвязывающих свойств крови, параметров прооксидантно-антиоксидантного баланса под влиянием озона, а также в условиях модуляции системы газотрансмиттеров (монооксида азота, сероводорода), разных значений парциального давления кислорода и углекислого газа обосновывают новые механизмы стабилизации и коррекции аффинитета гемоглобина к кислороду.



**Рисунок 3 – Механизмы действия озона, реализуемые через модификацию сродства гемоглобина к кислороду**

Установленные данные могут быть использованы в качестве фундаментальной основы для разработки новых путей повышения адапционных резервов эритроцитарного звена, коррекции гипоксического синдрома при разных нозологических состояниях, что актуально для практического здравоохранения.

*Результаты представленной монографии получены благодаря финансируемым научно-исследовательским проектам, выполненным совместно с сотрудниками кафедры медико-биологических основ спорта и кафедры теории физической культуры факультета физической культуры Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ярославский государственный педагогический университет имени К. Д. Ушинского» – «Исследование роли газотрансмиттеров в механизмах транспорта кислорода кровью в различных условиях кислородного обеспечения» («БРФФИ–РФФИ-2020»), а также с специалистами учреждения здравоохранения «Национальная антидопинговая лаборатория» Министерства здравоохранения Республики Беларусь – «Изучить значение NO-зависимых механизмов формирования кислородсвязывающих свойств эритроцитов в адаптивных реакциях на гипоксию различного генеза».*

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Озонный щит земли и его изменения / Э. Л. Александров [и др.]. – СПб. : Гидрометеиздат, 1992. – 288 с.
2. Ozone (O<sub>3</sub>) and SARS-CoV-2: Physiological bases and their therapeutic possibilities according to COVID-19 evolutionary stage / M. E. Fernández-Cuadros [et al.] // *SN Compr Clin. Med.* – 2020. – Vol. 2, № 8. – P. 1094–1102.
3. Potential role of oxygen-ozone therapy in treatment of COVID-19 pneumonia / A. Hernández [et al.] // *Am. J. Case Rep.* – 2020. – Vol. 21. – P. 1–6.
4. Методы системного применения озона в медицинской практике / В. Н. Серов [и др.] // *Биорадикалы и антиоксиданты.* – 2022. – Т. 9, № 1–2. – С. 41–76.
5. Ozone gas applied through nebulization as adjuvant treatment for lung respiratory diseases due to COVID-19 infections: A prospective randomized trial / E. Dengiz [et al.] // *Med Gas Res.* – 2022. – Vol. 12, № 2. – P. 55–59.
6. Apoptosis in testicular tissue of rats after vasectomy: Evaluation of eNOS, iNOS immunoreactivities and the effects of ozone therapy / S. Alpcan [et al.] // *Turk J. Urol.* – 2014. – Vol. 40, № 4. – P. 199–206.
7. Zhang, H. Protective effect of hydrogen sulfide on the kidney (Review) / H. Zhang, H. Zhao, N. Guo / *Mol. Med. Rep.* – 2021. – Vol. 24, № 4. – P. 696–707.
8. The Role of Hydrogen Sulfide in Respiratory Diseases / S. Khattak [et al.] // *Biomolecules.* – 2021. – Vol. 11, № 5. – P. 1–25.
9. The reactive species interactome: evolutionary emergence, biological significance, and opportunities for redox metabolomics and personalized medicine/ M. M. Cortese-Krott [et al.] // *Antioxid Redox Signal.* – 2017. – Vol. 27. – P. 684–712.
10. Hydrogen sulfide in skin diseases: A novel mediator and therapeutic target / Q. Xiao // *Oxid Med Cell Longev.* – 2021. – Vol. 2021. – P. 1–11.
11. Mechanisms underlying the vasorelaxant effect of hydrogen sulfide on human saphenous vein / M. Marinko [et al.] // *Fundam. Clin. Pharmacol.* – 2021. – Vol. 35, № 5. – P. 906–918.

12. Webb, K. L. Influence of High Hemoglobin-Oxygen Affinity on Humans During Hypoxia / K. L. Webb [et al.] // *Front Physiol.* – 2022. – № 12. – P. 1–13.

13. Stroganov, S. The differential regulation of placenta trophoblast bisphosphoglycerate mutase in fetal growth restriction: preclinical study in mice and observational histological study of human placenta / S. Stroganov [et al.] // *Elife.* –2024. – № 13. – P. 1–19.

14. Role of nitric oxide carried by hemoglobin in cardiovascular physiology: Developments on a three-gas respiratory cycle / R. T. Premont [et al.] // *Circ. Res.* –2020. – Vol. 126, № 1. – P. 1–60.

15. Балмагамбетова, С. К. Применение озоновых технологий в акушерстве и гинекологии / С. К. Балмагамбетова // *Медицинский журнал Западного Казахстана.* – 2011. – Т. 29, № 1. – С. 19–26.

16. Основные принципы и тактика озонотерапии: пособие для врачей / А. А. Миненков [и др.]. – М. : Росс. науч. центр восстан-ой. мед. и курортологии, 2001. – 230 с.

17. Курильчик, А. В. Озонотерапия в современной клинической практике / А. В. Курильчик, Е. В. Смирнова, В. И. Бульда // *Практикуючий лікар.* – 2016. – Т. 5, № 3. – С. 92–94.

18. Chen, M. Nanotechnology based gas delivery system: a «green» strategy for cancer diagnosis and treatment / M. Chen [et al.] // *Theranostics.* –2024. – Vol.14, №14. –P.5461-5491.

19. Перов, С. П. Современные проблемы атмосферного озона / С. П. Перов, А. Х. Хргиан. – Л. : Гидрометеоиздат, 1980. – 288 с.

20. Озон и озонирование: Монография / И. С. Чекман [и др.]. – Х. : «Цифрова друкарня №1», 2013. – 144 с.

21. Основні принципи та методи озонотерапії в медицині: Посібник для лікарів / Л. Д. Тондій [і др.] ; під. ред. М. І. Хвисяка. – Х. : Харк. мед. акад. післядип. освіти МОЗУ, Укр. асоц. озонотерапевтів і вироб. медобладнання, 2001. – 104 с.

22. Ахметов, Н. С. Общая и неорганическая химия. Учеб. для вузов / Н. С. Ахметов. – 4-е изд., испр. – М. : Высшая школа, 2001. – 743 с.

23. Li, Y. Ozone Therapy for Breast Cancer: An Integrative Literature Review / Y. Li, R. Pu // *Integr Cancer Ther.* – 2024. – № 23. – P. 1–9.

24. Ozone therapy in COVID-19: A narrative review / F. Cattell [et al.] // *Virus Res.* – 2021. – Vol. 291. – P. 1–5.

25. Potential clinical applications of ozone therapy in dental specialties-a literature review, supported by own observations / I. Barczyk [et al.] // *Int. J. Environ. Res. Public. Health.* – 2023. – Vol. 20, № 3. – P. 2048–2063.

26. Донець, Д. Г. Озонотерапія в клініці внутрішніх хвороб / Д. Г. Донець // *Фармакологія та лікарська токсикологія.* – 2009. – Т. 9, № 2. – С. 9–14.

27. Озон и озонирование: Монография / И. С. Чекман [и др.]. – Х. : «Цифрова друкарня № 1», 2013. – 144 с.

28. Delgadillo-Valero, L. F. The protective role of ozone therapy in kidney disease: A review / L. F. Delgadillo-Valero, E. Y. Hernández-Cruz, J. Pedraza-Chaverri // *Life (Basel).* – 2023. – Vol. 13, № 3. – P. 752–769.

29. Стручков, А. А. К вопросу о наружном применении кислородно-озоновой газовой смеси при лечении гнойных ран / А. А. Стручков // *Биорадикалы и антиоксиданты.* – 2022. – Т. 9, № 1–2. – С. 35–40.

30. Jeyaraman, M. Ozone therapy in musculoskeletal medicine: a comprehensive review / M. Jeyaraman // *Eur J Med Res.* – 2024. – Vol.29, №1. – P. 398-401.

31. Elvis, A. M. Ozone therapy: A clinical review / A. M. Elvis, J. S. Ekta // *J. Nat. Sci. Biol. Med.* – 2011. – Vol. 2, № 1. – P. 66–70.

32. Oxygen-ozone therapy as support and palliative therapy in 50 cancer patients with fatigue – A short report. *Eur. Rev.* / U. Tirelli [et al.] // *Med. Pharmacol. Sci.* – 2018. – Vol. 22, № 22. – P. 8030–8033.

33. Harapan, B. N. The role of ozone therapy in severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infection and coronavirus disease 2019 (COVID-19): A review / B. N. Harapan, T. Harapan // *Med. Gas Res.* – 2023. – Vol. 13, № 4. – P. 165–171.

34. Rowen, R. J. A plausible «penny» costing effective treatment for corona virus - ozone therapy / R. J. Rowen, H. Robins // *J. Infect Dis. Epidemiol.* – 2020. – № 6. – P. 113–118.

35. Апсатаров, Ж. Э. Влияние озона на динамику реологических показателей крови / Ж. Э. Апсатаров, В. Л. Любинский // *Реаниматология и интенсивная терапия. Анестезиология.* – 2000. – № 4. – С. 19–20.

36. Бисерова, М. Т. Озонотерапия в ветеринарии / М. Т. Бисерова // *Молодежь и наука.* – 2023. – № 4. – С. 1–5.

37. Schwartz, A. Manual de ozonoterapia clínica / A. Schwartz. – Madrid : Medizeus Soluciones Médicas, 2017. – 651 p.

38. Ozone therapy for skin diseases: Cellular and molecular mechanisms / L. Liu [et al.] // *Int. Wound J.* – 2022. – Vol. 20, № 6. – P. 2376–2385.

39. Zhang, X. Ozone: complicated effects in central nervous system diseases / X. Zhang // *Med Gas Res.* – 2025. – Vol.15, № 1. – P. 44–57.

40. Viebahn-Haensler, R. Ozone in Medicine. The Low-Dose Ozone Concept and Its Basic Biochemical Mechanisms of Action in Chronic Inflammatory Diseases / R. Viebahn-Haensler, O. S. León Fernández // *Int. J. Mol. Sci.* – 2021. – Vol. 22, № 15. – Art. 7890.

41. The biochemical and pharmacological properties of ozone: the smell of protection in acute and chronic diseases / R. Di Mauro [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2019. – Vol. 20, № 3. – P. 1–13.

42. Ozone oxidative postconditioning ameliorates joint damage and decreases pro-inflammatory cytokine levels and oxidative stress in PG/PS-induced arthritis in rats / J. Dranguet Vaillant [et al.] // *Eur. J. Pharmacol.* – 2013. – Vol. 714, № 1–3. – P. 318–324.

43. Озонотерапия как дополнительный метод в комплексном лечении ожоговой болезни / С. П. Перетягин [и др.] // *Биорадикалы и антиоксиданты.* – 2022. – Т. 9, № 1–2. – С. 18–34.

44. Курильчик, А. В. Озонотерапия в современной клинической практике / А. В. Курильчик, Е. В. Смирнова, В. И. Бульда // *Практикующий лікар.* – 2016. – Т. 5, № 3. – С. 92–94.

45. Using Ozone Therapy as an Option for Treatment of COVID-19 Patients: A Scoping Review / S. Radvar [et al.] // *Adv Exp Med Biol.* – 2021. – Vol. 1327. – P. 151–160.

46. AlMogbel, A. A. Ozone therapy in the management and prevention of caries / A. A. AlMogbel, M. I. Albarrak, S. F. AlNumair // *Cureus.* – 2023. – Vol. 15, № 4. – P. 37510–37514.

47. 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.

48. ALSUntangled #68: ozone therapy / Y. Sun [et al.] // *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener.* – 2023. – Vol. 24, № (5-6). – P. 548–552.

49. Juchniewicz, H. Oxygen-Ozone (O<sub>2</sub>-O<sub>3</sub>) therapy in peripheral arterial disease (PAD): A review study / H. Juchniewicz, A. Lubkowska // *Ther Clin. Risk. Manag.* – 2020. – № 16. – P. 579–594.

50. Мирошниченко, В. В. Озонотерапия и ее эффекты в пародонтологической практике / В. В. Мирошниченко, О. Е. Маренова // *Университетская Медицина Урала.* – 2018. – Т. 4, № 1 (12). – С. 66–70.

51. Гулиева, М. Г. Озонотерапия (обзор литературы) / М. Г. Гулиева // *Офтальмология.* – 2010. – № 2. – С. 102–109.

52. Rowen, R. J. Ozone therapy for complex regional pain syndrome: Review and case report / R. J. Rowen, H. Robins // *Curr Pain Headache Rep.* – 2019. – Vol. 23, № 6. – P. 41–46.

53. Мартусевич, А. К. Оксид азота как универсальный биорегулятор / А. К. Мартусевич // *Биорадикалы и антиоксиданты.* – 2019. – Т. 6, № 1. – С. 5–19.

54. Клинические и патогенетические аспекты немедикаментозных методов лечения гипертонической болезни / Э. И. Полозова [и др.] // *Современные проблемы науки и образования.* – 2021. – № 2. – С. 193–102.

55. Oxygen-ozone therapy for myocardial ischemic stroke and cardiovascular disorders / S. Pandolfi [et al.] // *Med Gas Res.* – 2025. – Vol. 15, № 1. – P. 36–43. – doi: 10.4103/mgr.MEDGASRES-D-23-00013.

56. Кузьмичева, Н. Е. Помощь озона в борьбе с коронавирусом SARS-CoV-2 (обзор литературы) / Н. Е. Кузьмичева, Л. Д. Скочычева // *Здравоохранение Дальнего Востока.* – 2021. – № 1(87). – С. 83–86.

57. Lamberto, R. Ozone Therapy and Its Use in Medicine / R. Lamberto, R. Rowen, V. Travagli // *Cardiology.* – 2016. – Vol. 134, № 2. – P. 99–100.

58. Clavo, B. Modulation by Ozone Therapy of Oxidative Stress in Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy: The Background for a Randomized Clinical Trial / B. Clavo [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2021. – Vol. 22, № 6. – P. 2802-2809.

59. Озонотерапия и перекисное окисление липидов: современное состояние вопроса / О. Л. Никитин [и др.] // *Современные аспекты клинической физиологии в медицине : сб. ст. Всероссийской науч.-практ. конф., посвящ. 110-летию со дня рожд. проф. М. В. Сергиевского / Самарский гос. мед. унив., Гериатрический науч.-практ. центр [и др.] ; под ред. Г. П. Котельникова, В. Ф. Пятина. – Самара, 2008. – С. 125–127.*

60. Ozone therapy for high-grade glioma: An overview / L. Yanchu [et al.] // *Front. Oncol.* – 2023. – Vol. 13. – Art. 1161206.

61. Тихомирова, И. А. Сероводород как сигнальная молекула в сердечно-сосудистой системе / И. А. Тихомирова, Е. П. Петроченко, А. С. Петроченко // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция.* – 2021. – Т. 20, № 1(77). – С. 5–16.

62. Каратеева, С. Ю. Озонотерапия в комплексном лечении гнойных осложнений у больных сахарным диабетом / С. Ю. Каратеева // *The unity of science.* – 2015. – № 3. – С. 154–156.

63. Ковалев, М. А. Влияние локальной озонотерапии на показатели окислительной модификации липидов и белков после лазерного удаления полипов голосовых складок / М. А. Ковалев, Е. В. Давыдова, А. В. Зурочка // *Современные проблемы науки и образования.* – 2023. – № 2. – С. 99–112.

64. Способ коррекции липидного профиля у пожилых пациентов с облитерирующим атеросклерозом 2-ой стадии / И. В. Макаров [и др.] // *Тольяттинский медицинский консилиум.* – 2015. – № 1-2. – С. 20–25.

65. Ибраимов, Д. С. Эффективность комплексного лечения больных острым панкреатитом / Д. С. Ибраимов // *Современная медицина: актуальные вопросы.* – 2017. – Т. 55, № 3. – С. 65–72.

66. Масленников, О. В. Практическая озонотерапия / О. В. Масленников, К. Н. Конторщикова. – Н. Новгород : Вектор – ТиС, 2003. – 51 с.

67. Влияние озонотерапии на окислительный гомеостаз пациентов с миастенией / О. В. Лапшина [и др.] // *Практическая медицина.* – 2017. – Т. 2, № 1. – С. 80–83.

68. The effects of ozone therapy and coenzyme Q (1)(0) combination on oxidative stress markers in healthy subjects / M. Inal [et al.] // *Ir. J. Med. Sci.* – 2011. – Vol. 180, № 3. – P. 703–707.

69. Микашинович, З. И. Эффективность озонотерапии в реабилитации новорожденных после перенесенной внутриутробной гипоксии / З. И. Микашинович, И. А. Логинов, А. А. Борщева // *Кубанский научный медицинский вестник.* – 2017. – Т. 24, № 5. – С. 45–49.

70. Состояние системы липопероксидации крови крыс при длительном воздействии озона / А. Г. Соловьева [и др.] // *Биорадикалы и антиоксиданты.* – 2017. – Т. 4, № 1. – С. 31–37.

71. Medical Ozone: A Redox Regulator with Selectivity for Rheumatoid Arthritis Patients / O. S. León Fernández [et al.] // Pharmaceuticals (Basel). – 2024. – Vol. 17, № 3. – С. 391–398.

72. Modulation of age-related changes in oxidative stress markers and energy status in the rat heart and hippocampus: a significant role for ozone therapy / M. M. El-Sawalhi [et al.] // Cell Biochem. Funct. – 2013. – № 31. – P. 518–525.

73. Перипартальная кардиомиопатия / И. Т. Муркамилов [и др.] // Бюллетень науки и практики. – 2023. – Т. 9, № 5. – С. 283–312.

74. Викторов, Ю. Н. Озонотерапия и динамика уровней биогенных аминов крови у больных стабильной стенокардией напряжения / Ю. Н. Викторов, Е. Г. Артемьева // Медицинский альманах. – 2010. – Т. 13, № 4. – С. 271–276.

75. Лебедь, С. Л. Применение озонированного физиологического раствора в послеоперационном периоде у больных с новообразованиями головного мозга / С. Л. Лебедь, Г. А. Бояринов, А. П. Фраерман // Биорадикалы и антиоксиданты. – 2018. – Т. 5, № 1. – С. 30–39.

76. Мурзалиев, А. Д. Опыт использования озонотерапии в урологии / А. Д. Мурзалиев, Е. Ж. Жолдошбеков, Б. А. Авасов // Вестник Смоленской гос. мед. академии. – 2018. – Т. 17, № 1. – С. 94–98.

77. Галиева, Н. В. Физико-химические свойства озона и его применение в медицине (клинико-экспериментальное обоснование) / Н. В. Галиева, В. Х. Фазылов, М. А. Чижова // Вестник технологического университета. – 2016. – Т. 19, № 17. – С. 172–175.

78. Anti-inflammatory and tissue regenerative effects of topical treatment with ozonated olive oil/vitamin e acetate in balanitis xerotica obliterans / M. Curro [et al.] // Molecules. – 2018. – Vol. 23, № 3. – P. 645–656.

79. Increased growth factors play a role in wound healing promoted by noninvasive oxygen-ozone therapy in diabetic patients with foot ulcers / J. Zhang [et al.] // Oxid. Med. Cell. Longev. – 2014. – Vol. 2014. – P. 1–8.

80. Ozone therapy restores immune dysfunction in refractory idiopathic granulomatous mastitis as a novel potential therapeutic approach / N. Cabioglu [et al.] // Biol. Int. – 2023. – Vol. 47, № 1. – P. 228–237.

81. Clinical effectiveness of medical ozone therapy in COVID-19: the evidence and gaps map / M. E. G. Serra [et al.] // *Med. Gas. Res.* – 2023. – Vol. 13, № 4. – P. 172–180.

82. Ozone infiltration for osteonecrosis of the jaw therapy: a case series / O. Di Fede [et al.] // *J. Clin. Med.* – 2022. – Vol. 11, № 18. – P. 5307–5318.

83. Динамика гемореологических, биохимических и иммунологических показателей у пациентов с острым тромбозом геморроидальных узлов под влиянием комплексного лечения, включающего парентеральную озонотерапию / Л. Е. Бубнова [и др.] // *Acta Medica Eurasica.* – 2022. – № 1. – С. 1–8.

84. Oxygen-ozone therapy in cervicobrachial pain: A real-life experience / V. Rania [et al.] // *J. Clin. Med.* – 2022. – Vol. 12, № 1. – P. 248–258.

85. The effects of ex vivo ozone treatment on human erythrocyte carbonic anhydrase enzyme / G. Erken [et al.] // *Arch Physiol Biochem.* – 2018. – Vol. 124, № 2. – P. 171–174.

86. Wang, L. ADP acting on P2Y<sub>13</sub> receptors is a negative feedback pathway for ATP release from human red blood cells / L. Wang, G. Olivecrona, M. Gotberg // *Circ. Res.* – 2005. – Vol. 96, № 2. – P. 189–196.

87. Исследование микроциркуляции и реологии крови у лиц с разным уровнем максимального потребления кислорода / П. В. Михайлов [и др.] // *Физиология человека.* – 2022. – Т. 48, № 4. – С. 93–102.

88. Ozone therapy in the comprehensive treatment of leg ulcers: Case report / J. Pasek [et al.] // *Adv. Skin. Wound Care.* – 2022. – Vol. 35, № 11. – P. 1–5.

89. Компенсаторно-приспособительная роль общей АТФ-азы эритроцитов при действии озона в экспериментальной острой кровопотере / А. В. Дерюгина [и др.] // *Биорадикалы и антиоксиданты.* – 2018. – Т. 5, № 3. – С. 16–21.

90. Эффективность озонотерапии в гинекологии / Л. Е. Бубнова [и др.] // *Медицина в Кузбассе.* – 2022. – Т. 21, № 4. – С. 24–29.

91. Effects of ozone autohemotherapy on blood VEGF, TGF- $\beta$  and PDGF levels after finger replantation / S. He [et al.] // *Ann Palliat Med.* – 2020. – Vol. 9, № 5. – P. 3332–3339.

92. Wen, Q. An overview of ozone therapy for treating foot ulcers in patients with diabetes / Q. Wen, Q. Chen // *Am. J. Med. Sci.* – 2020. – Vol. 360, № 2. – P. 112–119.

93. Зинчук, В. В. Сродство гемоглобина к кислороду при коронавирусной инфекции: новые грани известной проблемы / В. В. Зинчук, Н. В. Глуткина // *Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова.* – 2023. – Т. 109, №12. – С. 1780–1798.

94. Сотиева, З. К. Изучение эффективности озонотерапии при воспалительных заболеваниях пародонта / З. К. Сотиева, С. К. Хетагуров // *Здоровье и образование в XXI веке.* – 2016. – Т. 18, № 1. – С. 77–80.

95. Ozone: A multifaceted molecule with unexpected therapeutic activity / I. Zanardi [et al.] // *Cur. Med. Chem.* – 2016. – Vol. 23, № 4. – P. 1–33.

96. Кондратьева, Е. В. Влияние озона на мембранный потенциал митохондрий тромбоцитов / Е. В. Кондратьева, Е. Г. Лобанова // *Медицинский альманах.* – 2013. – Т. 27, № 3. – С. 58–59.

97. Герейханова, Л. Г. Окислительный стресс в патогенезе витилиго и методы его коррекции / Л. Г. Герейханова, К. М. Ломоносов, К. А. Башлакова // *Российский журнал кожных и венерических болезней.* – 2016. – Т. 1, № 19. – С.45–48.

98. Озонотерапия в клинике инфекционных болезней / В. Х. Фазылов [и др.] // *Практическая медицина.* – 2013. – Т. 5, № 74. – С. 47-51.

99. Плетнёв, А. А. Влияние озонотерапии на функциональное состояние хоккеистов в соревновательном периоде / А. А. Плетнёв, Л. И. Михайлова // *Вестник ЮУрГУ.* – 2007. – № 16. – С. 105–107.

100. Озонированная эритроцитарная масса в лечении больных с язвенными гастродуоденальными кровотечениями / С. В. Доброквашин [и др.] // *Казанский медицинский журнал.* – 2012. – Т. 93, № 2. – С. 357–359.

101. Клементе Апумайта, Х. М. Воздействие озона и гипербаротерапии на показатели гемостаза, иммунитета, перекисного окисления липидов у беременных с субкомпенсированной хронической плацентарной недостаточностью / Х. М. Клементе Апумайта, Г. О. Гречканев // *Уральский медицинский журнал.* – 2010. – Т. 75, № 10. – С. 141–145.

102. Озонотерапия и показатели перекисного окисления липидов в комплексном лечении беременных с железодефицитной анемией / Т. А. Федорова [и др.] // Медицинский альманах. – 2013. – Т. 3, № 27. – С. 159–161.

103. Nitric oxide. Biology and pathobiology / ed. L. J. Ignarro. – London: Academic press, 2000. – 1023 p.

104. Nagpure, B. V. Interaction of Hydrogen Sulfide with Nitric Oxide in the Cardiovascular System / B. V. Nagpure, J. S. Bian // Oxid. Med. Cell. Longev. – 2016. – Vol. 2016. – Art. 6904327.

105. Stuehr, D. J. Mammalian nitric oxide synthases / D. J. Stuehr // Biochim Biophys Acta. – 1999. – Vol. 1411, № 2-3. – P 217–230.

106. Joubert, J. Novel nitric oxide synthase inhibitors: A patent review / J. Joubert, S. F. Malan // Expert Opin Ther Pat. – 2011. – Vol. 21, № 4. – P. 537–560.

107. Nitric oxide synthase activity correlates with OGG1 in ozone-induced lung injury animal models / S. Zhang [et al.] // Front Physiol. – 2017. – Vol. 8, № 249. – P. 1–9.

108. Зинчук, В. В. Кислородтранспортная функция крови и газотрансмиттер сероводород / В. В. Зинчук // Успехи физиологических наук. – 2021. – Т. 52, № 3. С. 41-55.

109. Муравьев, А. В. Роль газовых медиаторов (CO, NO и H<sub>2</sub>S) в регуляции кровообращения: анализ участия микрореологии клеток крови / А. В. Муравьев // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2021. – Т. 20, № 1(77). – С. 91–99.

110. Remigante, A. Band 3 protein function and oxidative stress in erythrocytes / A. Remigante, R. Morabito, A. Marino // J Cell Physiol. – 2021. – Vol. 236, № 9. –P. 6225-6234.

111. Акулич, Н. В. Сравнительный анализ содержания монооксида азота в эритроцитсодержащих компонентах крови при ее хранении и их оптико-морфометрическая характеристика / Н. В. Акулич, В. В. Зинчук // Биофизика. – 2023. – Т. 68, № 1. – С. 79–86.

112. Emerging roles of hydrogen sulfide-metabolizing enzymes in cancer / A. Dawoud [et al.] // Redox Rep. – 2024. – Vol. 29, № 1. – P. 2437338.

113. A novel pathway for the production of hydrogen sulfide from D-cysteine in mammalian cells / N. Shibuya [et al.] // Nat Commun. – 2013. – № 4. – P. 1366–1373.

114. Cortese-Krott, M. M. Red Blood Cells as a «Central Hub» for Sulfide Bioactivity: Scavenging, Metabolism, Transport, and Cross-Talk with Nitric Oxide / Cortese-Krott M. M. // *Antioxid Redox Signal.* – 2020. – Vol.33, №18. – P. 1–18.

115. Selectivity of commonly used pharmacological inhibitors for cystathionine  $\beta$  synthase (CBS) and cystathionine  $\gamma$  lyase (CSE) / A. Asimakopoulou [et al.] // *Br. J. Pharmacol.* – 2013. – Vol. 169, № 4. – P. 922–932.

116. Regulation of mitochondrial bioenergetic function by hydrogen sulfide. Part I. Biochemical and physiological mechanisms / C. Szabo [et al.] // *Br. J. Pharmacol.* – 2014. – Vol. 171, № 8. – P. 2099–2122.

117. Изучение протеомного спектра околоплодных вод и идентификация белков – источников газотрансмиттеров в качестве маркеров осложненной гестации и прогнозирования постнатальной патологии / Т. Н. Погорелова [и др.] // *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии.* – 2022. – Т. 21, № 1. – С. 12–18.

118. Wang, R. Physiological implications of hydrogen sulfide: a whiff exploration that blossomed / R. Wang // *Physiol Rev.* – 2012. – Vol. 92, № 2. – P. 791–896.

119. Shahid, A. Hydrogen Sulfide: A Versatile Molecule and Therapeutic Target in Health and Diseases / A. Shahid, M. Bhatia // *Biomolecules.* – 2024. – Т.14, №9. – С.1145-1151.

120. Wang, R. Two's company, three's a crowd: can H<sub>2</sub>S be the third endogenous gaseous transmitter / R. Wang // *FASEB J.* – 2002. – Vol. 16, № 13. – P. 1792–1798.

121. Молекулярные механизмы действия газотрансмиттеров NO, CO и H<sub>2</sub>S в гладкомышечных клетках и влияние по-генерирующих соединений (нитратов и нитритов) на среднюю продолжительность жизни / С. В. Гусакова [и др.] // *Успехи физиологических наук.* – 2017. – Т. 48, № 1. – С. 24–52.

122. Li, L. Actions and interactions of nitric oxide, carbon monoxide and hydrogen sulphide in the cardiovascular system and in inflammation—a tale of three gases / L. Li, A. Hsu, P. K. Moore // *Pharmacol. Ther.* – 2009. – Vol. 123, № 3. – P. 386–400.

123. Li, L. An overview of the biological significance of endogenous gases: New roles for old molecules / L. Li, P. K. Moore // *Biochem. Soc. Trans.* – 2007. – Vol. 35, № 5. – P. 1138–1141.

124. Subtle interplay of endogenous bioactive gases (NO, CO and H<sub>2</sub>S) in inflammation / H. O. Pae [et al.] // Arch. Pharm. Res. – 2009. – Vol. 32, № 8. – P. 1155–1162.

125. Interactions of multiple gas-transducing systems: hallmarks and uncertainties of CO, NO, and H<sub>2</sub>S gas biology / M. Kajimura [et al.] // Antioxid. Redox. Signal. – 2010. – Vol. 13, № 2. – P. 157–192.

126. The hypothesis of the main role of H<sub>2</sub>S in coupled sulphide-nitroso signalling pathway / A. Bertova [et al.] // Gen Physiol. Biophys. – 2010. – Vol. 29, № 4. – P. 402–410.

127. Taoka, S. Characterization of NO binding to human cystathionine b-synthase: Possible implications of the effects of CO and NO binding to the human enzyme / S. Taoka, R. Banerjee // J. Inorg. Biochem. – 2001. – Vol. 87, № 4. – P. 245–251.

128. Direct inhibition of endothelial nitric oxide synthase by hydrogen sulfide: contribution to dual modulation of vascular tension / S. Kubo [et al.] // Toxicology. – 2007. – Vol. 232, № 1–2. – P. 138–146.

129. Zhao, W. H<sub>2</sub>S-induced vasorelaxation and underlying cellular and molecular mechanisms / W. Zhao, R. Wang // Am J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2002. – Vol. 283, № 2. – P. 474–480.

130. Hydrogen sulfide potentiates interleukin-1beta-induced nitric oxide production via enhancement of extracellular signal-regulated kinase activation in rat vascular smooth muscle cells / S. O. Jeong [et al.] // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2006. – Vol. 345, № 3. – P. 938–944.

131. Altaany, Z. Crosstalk between hydrogen sulfide and nitric oxide in endothelial cells / Z. Altaany, G. Yang, R. Wang // J. Cell. Mol. Med. – 2013. – Vol. 17, № 7. – P. 879–888.

132. Evidence for the formation of a novel nitrosothiol from the gaseous mediators nitric oxide and hydrogen sulphide / M. Whiteman [et al.] // Biochem Biophys Res. Commun. – 2006. – Vol. 343, № 1. – P. 303–310.

133. Hydrogen sulfide interacts with nitric oxide in the heart: possible involvement of nitroxyl / Q. C. Yong [et al.] // Cardiovasc. Res. – 2010. – Vol. 88, № 3. – P. 482–491.

134. The effect of ozone on hypoxia, hemolysis and morphological change of blood from patients with aortic dissection (AD): a preliminary in vitro experiment of ozonated autohemotherapy for treating AD / L. Deng [et al.] // Am J. Transl Res. – 2018. – Vol. 10, № 6. – P. 1829–1840.

135. Saveringhaus, J. W. Blood gas calculator / J. W. Saveringhaus // *Journal of Applied Physiology*. – 1966. – Vol. 21, № 5. – P. 1108–1116.

136. Камышников, В. С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике : в 2 т. / В. С. Камышников. – 2-е изд. – Минск : Беларусь, 2002. – Т. 2. – 463 с.

137. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк [и др.] // *Лаборатор. дело*. – 1988. – № 1. – С. 16–19.

138. Taylor, S. L. Sensitive fluorometric method for tissue tocopherol analysis / S. L. Taylor, M. P. Lamden, A. L. Tappel // *Lipids*. – 1976. – Vol. 11, № 7. – P. 530–538.

139. Bryan, N. S. Methods to detect nitric oxide and its metabolites in biological samples / N. S. Bryan, M. B. Grisham // *Free Radic. Biol. Med.* – 2007. – Vol. 43, № 5. – P. 645–657.

140. The liver as central regulator of hydrogen sulfide / E. J. Norris [et al.] // *Shock*. – 2011. – Vol. 36, № 3. – P. 242–250.

141. Змызгова, А. В. Клинические аспекты озонотерапии / А. В. Змызгова, В. А. Максимов. – М. : Первая образцовая типография, 2003. – 287 с.

142. Перетягин, С. П. Оценка эффекта различных доз озона на процессы липопероксидации и кислородообеспечение крови *in vitro* / С. П. Перетягин, К. Н. Конторщикова, А. А. Мартусевич // *Медицинский альманах*. – 2012. – Т. 21, № 2. – С. 101–104.

143. 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.

144. Содержание АТФ и 2,3 ДФГ в эритроцитах при консервации и воздействии озона / В. Н. Крылов [и др.] // *Биомедицина*. – 2014. – № 2. – С. 37–43.

145. Ковальчук, Л. С. Опыт применения различных методик озонотерапии в лечении осложнений сахарного диабета / Л. С. Ковальчук // *Проблемы здоровья и экологии*. – 2007. – Т. 12, № 2. – С. 120–123.

146. Ozonotherapy protects from in-stent coronary neointimal proliferation. Role of redoxins / A. Varone [et al.] // *Int. J. Cardiol.* – 2016. – Vol. 223. – P. 258–261.

147. Зинчук, В. В. Эффект газотрансмиттеров на кислородтранспортную функцию крови и редокс-статус при введении липополисахарида / В. В. Зинчук, М. Э. Фираго, И. Э. Гуляй

// Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. – 2017. – Т. 103, № 8. – С. 890–901.

148. Nitric oxide in red blood cell adaptation to hypoxia / Y. Zhao [et al.] // *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. – 2018. – Vol. 50, № 7. – P. 621–634.

149. Калаева, Е. А. Влияние нитроглицерина на спектральные и кислородсвязывающие характеристики внутриэритроцитарного гемоглобина / Е. А. Калаева, В. Г. Артюхов, О. В. Путинцева // *Экспер. и клин. фармакол.* – 2016. – Т. 79, № 9. – С. 12–17.

150. Зинчук, В. В. NO-зависимые механизмы внутриэритроцитарной регуляции сродства гемоглобина к кислороду: монография / В. В. Зинчук, Т. Л. Степура / под ред. В. В. Зинчука ; М-во здравоохранения Респ. Беларусь, УО «Гродн. гос. мед. ун-т», Каф. нормальной физиологии. – Гродно : ГрГМУ, 2016. – 175 с.

151. Robert, V. Gasotransmitter-induced therapeutic angiogenesis: A biomaterial prospective / V. Robert, S. Subramaniam // *ACS Omega* – 2022. – Vol. 7, № 50. – P. 45849–45866.

152. Głowacka, U. Synergisms, discrepancies and interactions between hydrogen sulfide and carbon monoxide in the gastrointestinal and digestive system physiology, pathophysiology and pharmacology / U. Głowacka, T. Brzozowski, M. Magierowski // *Biomolecules*. – 2020. – Vol. 10, № 3. – P. 445–460.

153. Development of hydrogen sulfide donors for anti-atherosclerosis therapeutics research: Challenges and future priorities / Y. W. Yang [et al.] // *Front Cardiovasc Med*. – 2022. – Vol. 9, № 909178. – P. 1–13.

154. Use of ozonated water as a new therapeutic approach to solve current concerns around antitumor treatment / K. Kuroda [et al.] // *Exp. Ther. Med.* – 2018. – Vol. 16, № 3. – P. 1597–1602.

155. Ozone Therapy as Adjuvant for Cancer Treatment: Is Further Research Warranted? / B. Clavo [et al.] // *Evid. Based. Complemen. Alternat. Med.* – 2018. – Vol. 2018. – Art. 7931849.

156. Сравнительный анализ действия свободного и депонированного NO на состояние про- и антиоксидантных систем крови / А. К. Мартусевич [и др.] // *Биофизика*. – 2015. – Т. 60, № 2. – С. 348–354.

157. 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.

158. Гречканев, Г. О. Экспериментальное обоснование озонотерапии акушерских осложнений / Г. О. Гречканев, К. Н. Конторщикова, Т. С. Качалина // Нижегородский медицинский журнал. – 2002. – № 1. – С. 20–25.

159. Zinchuk, V. Association of endothelial nitric oxide synthase gene G894T polymorphism with blood oxygen transport / V. Zinchuk, D. Zhadko // Nitric Oxide. – 2019. – Vol. 84. – P. 45–49.

160. Hughes, M. N. Chemistry of nitric oxide and related species / M. N. Hughes // Methods in Enzymology. – 2007. – Vol. 436. – P. 3–19.

161. Herold, S. Kinetics of the reactions of nitrogen monoxide and nitrite with ferryl hemoglobin / S. Herold, F. J. K. Rehmman // Free Radic. Biol. Med. – 2003. – Vol. 34, № 5. – P. 531–545.

162. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/nitrite-induced post-translational modifications of human hemoglobin determined by mass spectrometry: redox regulation of tyrosine nitration and 3-nitrotyrosine reduction by antioxidants / H. J. Chen [et al.] // Chembiochem. – 2008. – Vol. 9, № 2. – P. 312–323. – doi: 10.1002/cbic.200700541.

163. Recent advances in molecular research on hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S) role in diabetes mellitus (DM)-A systematic review / C. Munteanu [et al.] // Int. J. Mol. Sci. – 2022. – Vol. 23, № 12. – P. 1–26.

164. Bocci, V. How a calculated oxidative stress can yield multiple therapeutic effects / V. Bocci // Free Radic Res. – 2012. – Vol. 46, № 9. – P. 1068–1075.

165. Investigation of the effects of major ozone autohemotherapy application on erythrocyte deformability and aggregation / I. H. Akbudak [et al.] // Clin. Hemorheol. Microcirc. – 2019. – Vol. 71, № 3. – P. 365–372.

166. Redox regulation of nitrosyl-hemoglobin in human erythrocytes / F. Dei Zotti [et al.] // Redox Biol. – 2020. – Vol. 34. – P. 1–10.

167. Ozone therapy for the treatment of COVID-19 pneumonia: A scoping review / M. Izadi [et al.] // Int. Immunopharmacol. – 2021. – Vol. 92. – P. 107307–107316.

168. Oxygen-ozone (O<sub>2</sub>-O<sub>3</sub>) immunocutaneous therapy for patients with COVID-19. Preliminary evidence reported / M. Franzini [et al.] // Int Immunopharmacol. – 2020. – Vol. 88. – P. 1–5.

169. Подоксенов, Ю. К. Применение оксида азота для защиты миокарда при ишемической болезни сердца / Ю. К. Подоксенов,

Н. О. Каменщиков, И. А. Мандель // Анестезиология и реаниматология. – 2019. – № 2. – С. 34–47.

170. Зинчук, В. В. Участие мелатонина в регуляции кислородтранспортной функции крови при окислительном стрессе, вызванном введением липополисахарида / В. В. Зинчук, М. Э. Фираго // Биомедицинская химия. – 2017. – Т. 63, № 6. – С. 1–7.

171. Hemoglobin oxygen affinity in patients with cystic fibrosis / D. Böning [et al.] // PLoS One. – 2014. – Vol. 9, № 2. – 1–10.

172. Liu, T. The role of gasotransmitters in neonatal physiology / T. Liu, G. T. Mukosera, A. B. Blood // Nitric Oxide. – 2020. – Vol. 95. – P. 29–44.

173. Роль оксида азота в патофизиологии и лечении хронической обструктивной болезни легких / О. Ю. Кытикова [и др.] // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2019. – № 71. – С. 105–111.

174. H<sub>2</sub>S attenuates endoplasmic reticulum stress in hypoxia-induced pulmonary artery hypertension / J. Wu [et al.] // Biosci Rep. – 2019. – Vol. 39, № 7. – P. 1–13.

175. Rifkind, J. M. Regulation of oxygen delivery by the reaction of nitrite with RBCs under hypoxic conditions / J. M. Rifkind, M. T. Salgado, Z. Cao // Adv. Exp. Med. Biol. – 2012. – Vol. 737. – P. 183–189.

176. The effects of hypercapnia on cortical capillary transit time heterogeneity (CTH) in anesthetized mice / E. Gutiérrez-Jiménez [et al.] // J. Cereb. Blood Flow Metab. – 2018. – Vol. 38, № 2. – P. 290–303.

177. Hydrogen sulfide and nitric oxide interactions in inflammation / M. Lo Faro [et al.] // Nitric Oxide. – 2014. – Vol. 41. – P. 38–47.

178. Эффективность включения озонотерапии в комплексные программы реабилитации постковидного синдрома / А. В. Цветкова [и др.] // Курортная медицина. – 2022. – № 2. – С. 152–158.

179. Клинико-иммунологическая эффективность применения топической озонотерапии после хирургического лечения экссудативных поражений пространства Рейнке / М. А. Ковалев [и др.] // Южно-Уральский медицинский журнал. – 2023. – № 1. – С. 18–26.

180. 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. English.

181. Зинчук, В. В. Кислородсвязывающие свойства крови гемоглобина и монооксид азота / В. В. Зинчук, Н. В. Глуткина // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2013. – Т. 99, № 5. – С. 537–554.

182. Gell, D. A. Structure and function of haemoglobins / D. A. Gell // Blood Cells Mol. Dis. – 2018. – Vol. 70. – P. 13–42.

183. Ross, B. K. Lack of ozone effects on oxygen hemoglobin affinity / B. K. Ross, M. P. Hlastala, R. Frank // Arch Environ Health. – 1979. – Vol. 34, № 3. – P. 161–163.

184. 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.

185. Influence of ozone on haemoglobin oxygen affinity in type-2 diabetic patients with peripheral vascular disease: In vitro studies / L. Coppola [et al.] // Diabete Metab. – 1995. – Vol. 21, № 4. – P. 252–255.

186. Зинчук, В. В. Кислородзависимые механизмы физиологического действия озона / В. В. Зинчук, Е. С. Билецкая // Журнал медико-биологических исследований. – 2019. – Т. 7, № 2. – С. 216–227.

187. 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.

188. Возможности метода озонотерапии в реабилитации онкологических пациентов (обзор литературы) / Н. А. Шаназаров [и др.] // Научное обозрение. Медицинские науки. – 2016. – № 2. – С. 113–119.

189. Исхакова, Р. Р. Озонотерапия в офтальмологии / Р. Р. Исхакова, Ф. Р. Сайфуллина // Казанский медицинский журнал. – 2013. – Т. 94, № 4. – С. 510–516.

190. 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. 100, № 6. – С. 100–105.

191. Сукманский, О. И. Газотрансммиттеры: физиологическая роль и участие в патогенезе заболеваний / О. И. Сукманский, В. П. Реутов // Усп. физиол. наук. – 2016. – Т. 47, № 3. – С. 30–58.

192. Зинчук, В. В. Эффект озона на прооксидантно-антиоксидантный баланс 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.

193. Гвозденко, Т. А. Биоокислительные технологии в пульмонологии / Т. А. Гвозденко, О. Ю. Кытикова, Е. М. Иванов // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2011. – № 41. – С. 79–81.

194. 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.

195. Clinical utility of ozone therapy for musculoskeletal disorders / O. Seyam [et al.] // *Med. Gas Res.* – 2018. – Vol. 8, № 3. – P. 103–110.

196. Oxygen tension, H<sub>2</sub>S, and NO bioavailability: is there an interaction? / G. K. Kolluru [et al.] // *J. Appl. Physiol.* – 2016. – Vol. 120, № 2. – P. 263–270.

197. Van Leeuwen, S. R. Three-wavelength method for the optical differentiation of methemoglobin and sulfhemoglobin in oxygenated blood / S. R. Van Leeuwen, G. V. Baranoski, B. W. Kimmel // *Annu. Int. Conf. IEEE Eng. Med. Biol. Soc.* – 2017. – Vol. 2017. – P. 4570–4573.

198. Зинчук В. В. Кислородтранспортная функция крови и газотрансмиттер сероводород / В. В. Зинчук // *Успехи физиологических наук*, – 2021. – Т. 52, № 3. – С. 41-55.

199. Зинчук В. В. Участие оксида азота в формировании кислородсвязывающих свойств гемоглобина // *Успехи физиологических наук*. – 2003. – Т. 34, № 2. – С. 33–45.

200. Мурзалиев, А. Д. Опыт использования озонотерапии в урологии / А. Д. Мурзалиев, Е. Ж. Жолдошбеков, Б. А. Авасов // *Вестник Смоленской гос. мед. академии*. – 2018. – Т. 17, № 1. – С. 94–98.

201. Prophylactic ozone administration reduces intestinal mucosa injury induced by intestinal ischemia-reperfusion in the rat / O. Onal [et al.] // *Mediat Inflamm.* – 2015. – Vol. 2015. – P. 1–8. 2015.

202. Зинчук, В. В. Влияние озона на кислородсвязывающие свойства крови и ее прооксидантно-антиоксидантный баланс

в условиях воздействия на H<sub>2</sub>S-генерирующую систему / В. В. Зинчук, Е. С. Билецкая // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. – 2023. – Т. 109, № 6. – С. 760–770.

203. Zinchuk, V. Effect of ozone on oxygen transport and pro-oxidant-antioxidant balance of red blood cell suspension / V. Zinchuk, E. Biletskaya // Acta Chimica Slovenica. – 2023. – Vol. 70, № 2. – P. 226–230.

204. Вклад газотрансмиттеров (NO, H<sub>2</sub>S) 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.

205. 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.

206. Эволюция представлений о значении сероводорода в формировании возрастзависимой патологии / Е. В. Голубкина [и др.] // Вестник образования и развития науки Российской академии естественных наук. – 2021. – Т. 25, № 3. – С. 69–81.

207. Hydrogen sulfide is a regulator of hemoglobin oxygen-carrying capacity via controlling 2,3-BPG production in erythrocytes / G. Wang [et al.] // Oxid Med. Cell. Longev. – 2021. – Vol. 2021. – P. 1–16.

208. Телегина, Д. И. Сероводород выступает медиатором по-сигнальной активности, тем самым стимулируя дисперсию биопленок / Д. И. Телегина, С. В. Васильева // Актуальные вопросы биологической физики и химии. – 2021. – Т. 6, № 3. – С. 439–446.

209. The roles of hydrogen sulfide in renal physiology and disease states / J. Feng [et al.] // Ren. Fail. – 2022. – Vol. 44, № 1. – P. 1289–1308.

210. Nitric oxide and hydrogen sulfide regulation of ischemic vascular growth and remodeling / S. Rajendran [et al.] // Compr. Physiol. – 2019. – Vol. 9, № 3. – P. 1213–1247.

211. 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. – P. 11467–11476.

212. 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. 866–872.

213. Regulation of erythrocyte Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>/2Cl<sup>-</sup> cotransport by an oxygen-switched kinase cascade / S. Zheng [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2019. – Vol. 294, № 7. – P. 2519–2528.

214. 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, № 1957. – P. 1–13.

215. Franco, R. Antioxidant defense mechanisms in erythrocytes and in the central nervous system / R. Franco, G. Navarro, E. Martínez-Pinilla // *Antioxidants (Basel)*. – 2019. – Vol. 8, № 2. – P. 46–56.

216. Dei Zotti, F. Nitrosyl-hemoglobin formation in rodent and human venous erythrocytes reflects NO formation from the vasculature in vivo / F. Dei Zotti, I. I. Lobysheva, J. L. Balligand // *PLoS One.* – 2018. – Vol. 13, № 7. – P. 1–20.

217. Rifkind, J. M. Hemoglobin redox reactions and red blood cell aging / J. M. Rifkind, E. Nagababu // *Antioxid Redox Signal.* – 2013. – Vol. 18, № 1. – P. 2274–2283.

218. Guerra, D. D. Gasotransmitters in pregnancy: from conception to uterine involution / D. D. Guerra, K. J. Hurt // *Biol. Reprod.* – 2019. – Vol. 101, № 1. – P. 4–25.

219. 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.

220. Strahl, J. Nitric oxide mediates metabolic functions in the bivalve *Arctica islandica* under hypoxia / J. Strahl, D. Abele // *PLoS One.* – 2020. – Vol. 15, № 5. – P. 1–19.

221. 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.

222. Туктанов, Н. В. Эффекты инфузионной озонотерапии у пациентов с нарушением функции щитовидной железы / Н. В. Туктанов // *Вестник Чувашского университета.* – 2013. – № 3. – С. 549–554.

223. Low-Dose ozone therapy improves sleep quality in patients with insomnia and coronary heart disease by elevating serum BDNF and GABA / Y. Li [et al.] // *Bull. Exp. Biol. Med.* – 2021. – Vol. 170, № 4. – P. 493–498.

224. 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. 95–105.

225. 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.

226. Роль и значение гипоксического компонента в развитии осложнений новой коронавирусной инфекции (COVID-19) / И. С. Сабиров [и др.] // The Scientific Heritage. – 2021. – № 62. – С. 21–28.

227. Глазачев, О. С. Особенности реактивности сосудов микроциркуляторного русла практически здоровых людей при моделировании острой умеренной гипоксии и гипероксии / О. С. Глазачев, О. С. Дудник // Физиология человека. – 2013. – Т. 39, № 4. – С. 400–406.

228. 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.

229. H<sub>2</sub>S-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. 69–78.

230. 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.

231. 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.

232. 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.

233. 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.

234. Состояние кислородтранспортной функции гемоглобина при физиологически протекающей и осложненной железодефицитной анемией беременности / И. В. Карпова [и др.] // *Акушерство и гинекология*. – 1992. – Т. 68, № 2. – С. 13–17.

235. 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.

236. 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.

237. Hemoglobin betacy93 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. 6425–6430.

238. 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.

239. Орлов, Ю. П. Внутрисосудистый гемолиз эритроцитов в развитии органных дисфункций при критических состояниях / Ю. П. Орлов // *Общая реаниматология*. – 2008. – Т. 4, № 2. – С. 88–93. – doi: 10.15360/1813-9779-2008-2-88.

Научное издание

**Зинчук Виктор Владимирович**  
**Билецкая Елена Степановна**

**МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ОЗОНА  
НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЭРИТРОЦИТОВ**

Монография

Под редакцией профессора В. В. Зинчука

Ответственный за выпуск М. Н. Курбат

Компьютерная верстка М. Я. Милевской  
Корректор М. Я. Милевская

Подписано в печать 21.10.2025.  
Формат 60x84/16. Бумага офсетная.  
Гарнитура Times New Roman. Печать цифровая.  
Усл. печ. л. 8,14. Уч.-изд. л. 5,51. Тираж 17 экз. Заказ 77.

Издатель и полиграфическое исполнение  
учреждение образования «Гродненский государственный медицинский университет».  
ЛП № 02330/445 от 18.12.2013.  
Ул. Горького, 80, 230009, Гродно.