

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
“НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ НИЖЕГОРОДСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ им. Н.И.ЛОБАЧЕВСКОГО» (ННГУ)

На правах рукописи

ПЕРЕТЯГИН ПЕТР ВЛАДИМИРОВИЧ

**ФУНКЦИОНАЛЬНО-МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ОРГАНИЗМА
В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ ОЗОНОМ В НОРМЕ И ПРИ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОЖОГОВОМ ШОКЕ**

1.5.5 – физиология человека и животных

Диссертация на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук
Соловьева Анна Геннадьевна

Нижний Новгород – 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

	Стр.
Список принятых сокращений.....	4
Введение.....	6
Глава 1. Обзор литературы.....	15
1.1. Механизмы лечебного действия озона.....	15
1.2. Возникновение и механизмы оксидативного стресса.....	22
1.3. Развитие окислительного стресса при термической травме.....	25
1.3.1. Ожоги.....	25
1.3.2. Нарушение микроциркуляции и стимуляция возникновения активных форм кислорода при ожоговой травме.....	27
1.3.3. Механизм развития окислительного стресса при ожоге.....	32
Глава 2. Материалы и методы исследования.....	38
2.1. Структура и объем исследования.....	38
2.2. Методы исследования.....	41
2.2.1. Изучение вариабельности сердечной деятельности.....	41
2.2.2. Исследование микроциркуляции.....	44
2.2.3. Метод биохемилюминесцентного анализа.....	46
2.2.4. Определение концентрации глюкозы и лактата.....	47
2.2.5. Метод оценки концентрации малонового диальдегида.....	47
2.2.6. Метод оценки активности супероксиддисмутазы.....	48
2.2.7. Метод оценки активности каталазы.....	49
2.2.8. Метод оценки активности альдегиддегидрогеназы.....	49
2.2.9. Метод оценки активности лактатдегидрогеназы.....	50
2.2.10. Определения концентрации белка.....	51
2.2.11. Приготовление гомогената органов.....	52
2.3. Статистическая обработка результатов.....	52
Глава 3. Результаты и их обсуждение.....	53
3.1. Исследование функционально-метаболических параметров организма при длительном применении озона.....	53

3.1.1. Особенности функционирования микроциркуляторного русла и вариабельности сердечного ритма в условиях длительного применения озона в эксперименте.....	53
3.1.2. Изучение показателей про- и антиоксидантной системы на фоне продолжительного воздействия озона.....	61
3.1.3. Активность альдегиддегидрогеназы и лактатдегидрогеназы крови крыс при длительном применении озона.....	71
3.1.4. Уровень глюкозы и лактата крови крыс на фоне продолжительного воздействия озона.....	75
3.2. Особенности развития ожоговой болезни в раннем периоде после нанесения комбинированной термической травмы	84
3.2.1. Состояние системы микроциркуляции и вариабельность сердечного ритма в раннем периоде ожоговой болезни.....	84
3.2.2. Интенсивность окислительного и энергетического метаболизма крови крыс при термической травме.....	91
3.2.3. Исследование воздействия оксидативного стресса на метаболизм сердца при экспериментальной термической травме.....	98
3.3. Изучение влияния озонированного физиологического раствора на гемодинамические показатели, окислительный и энергетический метаболизм при комбинированной термической травме.....	101
3.4. Результаты корреляционного анализа между показателями микроциркуляции, вариабельности сердечного ритма и биохимическими параметрами при комбинированной термической травме и в условиях воздействия озонированного физиологического раствора	120
Заключение.....	127
Выводы	132
Список литературы	134

СПИСОК ПРИНЯТЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АОС – антиоксидантная система
АлДГ – альдегиддегидрогеназа
АМо – амплитуда моды
АФК – активные формы кислорода
ВНС – вегетативная нервная система
ВПР – вегетативный показатель ритма
ВСР – вариабельность сердечного ритма
ГМК – гладкомышечные клетки
Д – дыхательные колебания
ИВР – индекс вегетативного равновесия
ИК спектроскопия – инфракрасная спектроскопия
ИН – индекс напряжения регуляторных систем
КИ – кардиоинтервал
КИГ – кардиоинтервалография
КС – карбонильный стресс
КСО – ксантинооксидаза
КТТ – комбинированная термическая травма
ЛДГ_{обр} – лактатдегидрогеназа в обратной реакции
ЛДГ_{пр} – лактатдегидрогеназа в прямой реакции
ЛДФ – лазерная доплеровская флоуметрия
ЛПНП – липопротеины низкой плотности
ЛПВП – липопротеины высокой плотности
ЛПС – липополисахарид
М – миогенные колебания
М_о – мода
МДА – малоновый диальдегид
МПО – миелопероксидаза
МЦ – микроциркуляция
Н – нейрогенные колебания
ОАА – общая антиоксидантная активность
ОБ – ожоговая болезнь

ОС – окислительный стресс
ОЦК – объем циркулирующей крови
ПАПР – показатель адекватности процессов регуляции
ПМ – показатель микроциркуляции
ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты
ПШ – показатель шунтирования
ПОЛ – перекисное окисление липидов
ПСНС – парасимпатическая нервная система
ПТ – поверхность тела
РГ – ритмограмма
СОД – супероксиддисмутаза
СРО – свободнорадикальное окисление
С – сердечные колебания
СНС – симпатическая нервная система
СР – сердечный ритм
ССС – сердечно-сосудистая система
ТБК – тиобарбитуровая кислота
ЧСС – частота сердечных сокращений
Э – эндотелиальные колебания
ЭКГ – электрокардиограмма
CV – коэффициент вариации
pNN5 – процентная представленность эпизодов различия последовательных интервалов более, чем на 5 мс
RMSSD – квадратный корень суммы разностей последовательных R–R интервалов
SDNN – стандартное отклонение всех R–R интервалов
TP – общая мощность спектра при анализе ВСР
LF – мощность волн низкой частоты в диапазоне от 0,32 до 0,9 Гц
HF – мощность волн высокой частоты в диапазоне от 0,9 до 3,5 Гц
VLF – мощность волн очень низкой частоты в диапазоне от 0,18 до 0,32 Гц

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы

Проблема биологического окисления, соотношения и взаимодействия окислительных и восстановительных процессов, как важнейшего компонента гомеостаза, представляет теоретический и практический интерес. Актуализация исследований, посвящённых вопросам изучения свободнорадикальных процессов, роли и значения активных форм кислорода в них участвующих, открывающимся возможностям целенаправленного использования их экзогенных форм для коррекции различных патологических состояний, свидетельствует о новых появляющихся перспективах в разработке технологий адаптации к гипоксии (Перетягин, 1991; Масленников и др., 2012; Пожилова и др., 2015).

Гипоксические и ишемические нарушения в этиопатогенезе различных заболеваний играют исключительно важную роль. При этом дисбаланс окислительно-восстановительных систем, сопутствующий гипоксическим нарушениям, проявляется, прежде всего, в виде окислительного стресса, основным выражением которого является избыточное накопление в организме прооксидантов и снижение возможностей антиокислительных резервов (Тюзиков, Калинин, 2017; Pisoschi, Pop, 2015).

Перечень патологических процессов, объединяемых понятием свободно-радикальных, включает воспалительные процессы, повреждения, индуцированные гипероксией, диабет, атеросклероз, онкологическая патология, состояния постишемической реперфузии и другие (Ewing et al., 1985; Tafani et al., 2016). Таким образом, выделили критерии свободно-радикальной патологии:

- 1) повышение уровня свободных радикалов и, как следствие, усиление собственной биохемилюминесценции клеток и тканей, рост концентрации первичных, вторичных и конечных продуктов свободнорадикального окисления (СРО), включая альдегиды, кетоны и эпоксиды, (Меньщикова, 1998);

2) уменьшение концентрации неферментативных антиоксидантов;

3) проявление клинических симптомов: вялость, ослабление реакции на внешние раздражители, хрупкость сосудов, сниженная гемолитическая устойчивость эритроцитов, преобладание дистрофических процессов над регенеративными, снижение скорости роста и преждевременное старение, снижение фертильности вплоть до стерильности;

4) доказанные положительные эффекты воздействия антиоксидантов в профилактических и лечебных целях (Меньщикова, 1998).

Исследование свободнорадикальных процессов, а также активных форм кислорода (АФК), чрезмерная генерация которых напрямую связана с развитием свободнорадикального окисления, является актуальной медико-биологической проблемой (Улащик, 2013; Lushchak, 2014; Voronkova et al., 2018), так как неотъемлемым неспецифическим звеном в развитии стресса, дезадаптации и возникновении патологии является активация процессов свободнорадикального окисления и нарушение функционального состояния стресс-лимитирующей системы антиоксидантной защиты организма (Ozougwu, 2016). При этом образование активных форм кислорода и инициируемые ими свободнорадикальные реакции при наличии необходимого уровня антиоксидантной защиты относятся к нормальным биохимическим реакциям, необходимым для функционирования аэробных живых существ. Поддержание баланса между активностью свободнорадикального окисления и антиоксидантной системой защиты имеет саногенетическое значение в профилактике различных патологических состояний (Конторщикова, 1992; Перетягин и др., 2007).

Одними из наиболее ярких патологических процессов, в патогенезе которых показано участие активных форм кислорода, является ожоговая болезнь, в клинической картине которой наряду с травматическим повреждением играют огромное значение проявления полиорганной недостаточности, протекающие с воспалительно-иммунными нарушениями, сдвигами метаболизма, клинической картиной сепсиса, гипоксическими

нарушениями, последствиями ишемии и реперфузии тканей, нарушениями со стороны сердечно-сосудистой и дыхательной систем, центральной и периферической нервной систем, печени, почек, кроветворных органов (Баевский, 1979; Гольдзон, Долгих, 2011).

Поскольку нервная система играет ведущую роль в жизнедеятельности организма, изучение её состояния при ожоговой травме является актуальным (Хушкадамов, Девонаев, 2009). Кроме того, из-за широкой распространенности ожогового травматизма, высокой инвалидизации и смертности больных представляется важным изучение вопросов оперативной оценки состояния вегетативной нервной системы, значительная часть структур которой находятся в зоне кровоснабжения вертебрально-базиллярного сосудистого бассейна (Субботина и др., 2015). К числу наиболее перспективных подходов в решении данной задачи следует отнести изучение вариабельности ритма сердца, поскольку заключенная в последовательном ряду интервалов R–R информация содержит сведения об автоматии сердца как о локальном свойстве конкретных возбудимых структур и отражает характер процессов, происходящих в системе управления синусового узла (Баевский и др., 1984; Бабунц и др., 2011; Субботина и др., 2015).

В качестве экзогенного источника активных форм кислорода может выступать кислородно-озоновая смесь, получаемая с помощью специальных аппаратов – озонаторов, поскольку озон относится к радикалообразующим молекулам (Zhang et al., 2020; Epelle et al., 2023). Подтверждением этому являются исследования, показавшие, что при разложении озона в озонированном физиологическом растворе образуется только перекись водорода очень низкой концентрации (порядка 0,0004%) (Перетягин, 1991) и отсутствует возникновение токсичных гипохлоритов или хлоратов в озонированном физиологическом растворе. Кроме того, реакционная способность озона в физиологическом растворе характеризуется его быстрым разложением, что требует постоянного барботирования озоном для обеспечения необходимой концентрации растворенного озона (Adali et al.,

2019; Travagli, Iorio, 2023). В то же время при динамическом системном введении озона, растворенного в инфузионных растворах, в процессе стандартизации необходимо учитывать такие аспекты, как режим озонирования, время насыщения, реактивность, стабильность, количественное определение содержания озона (Сазонова, Котова, 2014; Саркулова и др., 2018; Borrelli, Bocci, 2018; Travagli, Iorio, 2023).

В эксперименте и клинике показано, что воздействие озона связано с перекисным окислением липидов. Способность озона вызывать окисление биомолекул непосредственно и посредством свободнорадикальных реакций является основой для его широкого применения (Boyarinov et al., 2016; Diracoglu, 2016; Pinto-Almazan et al., 2018; Seyam et al., 2018). Контакт озона с биологическими мишенями приводит к высвобождению эффекторных молекул в ткани. Как правило, это молекулы с низкой молекулярной массой, которые избирательно связываются с белком, регулируя его биологическую активность, изменяют активность ферментов, экспрессию генов и клеточные сигналы. Таким образом, усиливается синтез антиоксидантов, утилизирующих избыток АФК при метаболических заболеваниях, сопровождающихся хроническим окислительным стрессом (Bocci et al., 2011; Buyuklu et al., 2017; Elkholy, Al-Gholam, 2018; Tricarico, Travagli, 2021).

Озон и его производные имеют множество лечебных применений, каждое из которых характеризуется специфическими биологическими и молекулярными аспектами. Однако, молекулярные механизмы действия и молекулярные мишени озонированного физиологического раствора до конца не изучены. Кроме того, эффекты любой терапии, в том числе и озонотерапии, должны быть измерены с помощью надежных биомаркеров. В большинстве случаев они основаны на оценке биомаркеров окислительного стресса. Но, нет общего консенсуса относительно аналитических характеристик методов, предложенных для измерения окислительно-восстановительного состояния.

Цель исследования: изучить функционально-метаболические

особенности организма в условиях воздействия озоном в норме и при экспериментальном ожоговом шоке.

Задачи исследования:

1. Изучить особенности функционирования микроциркуляторного русла, вариабельности сердечного ритма, окислительного и энергетического метаболизма в условиях длительного применения озонированного физиологического раствора в эксперименте.

2. Исследовать системные реакции организма экспериментальных животных, выраженность оксидативного стресса в крови и сердце в раннем периоде ожоговой болезни.

3. Оценить показатели микроциркуляции, вариабельности сердечного ритма, параметры оксидативного статуса и энергетического метаболизма крови и миокарда при ожоговом шоке под влиянием инфузий озонированного физиологического раствора в эксперименте.

Научная новизна.

Впервые показан дозозависимый эффект воздействия озона на функционально-метаболические параметры организма при длительном его применении. Впервые в условиях хронического эксперимента установлено, что низкая концентрация озона (0,6 мг/л O₃) в озонированном физиологическом растворе обладала антиоксидантным действием, высокие концентрации O₃ в нем (2мг/л O₃ и 8мг/л O₃) имели прооксидантные свойства, вызывали вегетативное расстройство, приводили к снижению активности парасимпатического отдела ВНС, лактатацидозу и гипергликемии, нарушению метаболизма и микрогемоциркуляции.

Впервые проведено комплексное изучение микроциркуляции, ВСР, окислительного и энергетического метаболизма и выявлена взаимосвязь их параметров на модели комбинированной термической травмы (КТТ). Впервые изучены функционально-биохимические механизмы развития ожогового шока, заключающиеся в угнетении микроциркуляции, развитии гиперсимпатикотонии и окислительного стресса, возникновении

эндотоксемии, ацидоза, гипергликемии, гипоксии тканей при комбинированной термической травме на 1, 3 сутки после ее получения.

Впервые выявлены эффекты воздействия озонированного физиологического раствора при КТТ на показатели микроциркуляции, вариабельности сердечного ритма, окислительного и энергетического метаболизма: стресс-лимитирующий, гомеостатический, вазомоторный, энергостимулирующий, антигипоксический, гипогликемический, антиоксидантный и детоксикационный.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Диссертационное исследование носит фундаментально-прикладной характер с перспективным практическим выходом. Полученные данные углубляют представления о функционально-метаболических особенностях организма в период ожогового шока и возможности использования АФК для коррекции нарушений состояния микроциркуляции, вегетативных расстройств и окислительного стресса в ранний период после комбинированной термической травмы. Полученные в ходе работы результаты практически значимы в плане разработки инновационных лечебных технологий, включающих терапию АФК и используемых при многих патологических состояниях, сопровождающихся нарушением микроциркуляции, развитием окислительного стресса и энергодефицита.

По результатам исследования внедрены способы лечения остаточных длительно существующих ожоговых ран (патент на изобретение № 2790779), оценки уровня окислительного стресса у пациентов с ожогами (патент на изобретение № 2798309). Разработанные устройства для обеспечения регенерации повреждений кожных покровов в эксперименте (патент на полезную модель № 167633), для насыщения крови газами (патент на полезную модель № 167710) и для экспериментального моделирования термической травмы кожи (патент на полезную модель № 179126) нашли применение в экспериментальной биологии и медицине.

Впервые получен комплекс функционально-биохимических данных,

характеризующих состояние микроциркуляции, вариабельности сердечного ритма (ВСР), окислительный и энергетический метаболизм при ожоговом шоке в 1, 3 сутки: угнетение микроциркуляции, гиперсимпатикотония, окислительный стресс, эндотоксемия, ацидоз, гипергликемия, гипоксия тканей. Установлена статистически значимая ($p < 0,05$) взаимосвязь между показателями микроциркуляции, ВСР и параметрами окислительного и энергетического метаболизма, необходимыми для мониторинга эффективного лечения КТТ и определена вероятность их участия в формировании сердечной недостаточности.

Материалы диссертационной работы внедрены в научно-исследовательскую работу и учебный процесс кафедр ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского».

Положения, выносимые на защиту:

1. Состояние системы микроциркуляции, ВСР, окислительного и энергетического метаболизма и взаимосвязи их параметров определяют развитие модельной комбинированной термической травмы в ранний период.
2. Выраженность изменений микроциркуляции, вариабельности сердечного ритма, окислительного и энергетического метаболизма организма зависит от дозы активных форм кислорода.
3. Применение озонированного физиологического раствора в ранний период комбинированной термической травмы имеет выраженные функционально-метаболические закономерности и позволяет повысить адаптационные возможности организма путем восстановления периферического кровообращения, нормализации ряда показателей микроциркуляции, нивелирования вегетативных расстройств, увеличения энергетического потенциала на клеточном уровне, снижения концентрации лактата и глюкозы, ликвидации окислительного стресса за счет повышения активности супероксиддисмутазы (СОД), каталазы, альдегиддегидрогеназы

(АлДГ) и уменьшения свободнорадикального окисления (СРО) и концентрации малонового диальдегида (МДА).

Апробация работы.

Основные материалы диссертационной работы доложены и обсуждены на V Азиатско-Европейской и VI Украинско-Русской научно-практической конференции с международным участием «Озон в биологии и медицине» (Одесса, 2012), IX, X, XI Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Озон, активные формы кислорода, оксид азота и высокоинтенсивные физические факторы в биологии и медицине» (Н.Новгород, 2013, 2016, 2018), XV Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Молодежь и медицинская наука в XXI веке» (Киров, 2014), III Всероссийской научно-практической конференции «Реабилитация и профилактика – 2015 (в медицине и психологии)» (Москва, 2015), VI Азиатско-Европейской научно-практической конференции «Озон и другие медицинские газы в биологии и терапии» (Крым, 2016), VI Всероссийской с международным участием школы-конференции «Физиология кровообращения» (Москва, 2016), VI Всероссийской конференции молодых ученых и студентов с международным участием «VOLGAMEDSCIENCE» (Нижний Новгород, 2020), XXVII Всероссийской конференции молодых ученых с международным участием «Актуальные проблемы биомедицины – 2021» (Санкт-Петербург, 2021), XVII международной научной конференции «Актуальные вопросы биологической физики и химии. БФФХ-2022» (Севастополь, 2022), 76-й Всероссийской школе-конференции молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление» (Н. Новгород, 2023).

Личный вклад автора в проведенное исследование

Перетягиным П.В. лично проведен анализ отечественной и зарубежной научной литературы по теме диссертации, сформулированы цель, задачи и выводы исследования, спланирован и проведен эксперимент,

в ходе которого набраны и обработаны первичные данные, выполнены лабораторные биохимические и функциональные исследования, составлена база данных и осуществлена статистическая обработка полученных результатов, написан текст диссертации, подготовлены публикации, устные и стендовые доклады для участия в научно-практических мероприятиях.

Публикации

Основные положения диссертации опубликованы в 29 научных работах, из которых 11 статей – в рецензируемых журналах, рекомендуемых ВАК для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук. Получено 2 патента на изобретение и 3 патента на полезную модель.

Объем и структура работы

Диссертационная работа изложена на 161 странице текста и состоит из списка используемых сокращений, введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, изложения результатов собственных исследований и их обсуждения, заключения, выводов, списка литературы. Список литературы содержит 257 источника, из них 118 отечественных и 139 зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 16 таблицами и 49 рисунками.

Глава 1. Обзор литературы

1.1. Механизмы лечебного действия озона

Термин «активные формы кислорода» применяется как к свободным радикалам, так и к их нерадикальным промежуточным соединениям. Свободные радикалы определяются как виды, содержащие один или несколько неспаренных электронов, и именно эта неполная электронная оболочка придает их высокую реакционную способность. Свободные радикалы могут быть получены из многих элементов, но в биологических системах наиболее важны именно те, которые связаны с кислородом и азотом (Масленников, Конторщикова, 2005; Проскурнина, Владимиров, 2015; Li et al, 2016).

Озон, форма активного кислорода, был изучен в 19 веке, и была выявлена его способность вступать в реакцию с большинством органических и неорганических соединений, полностью окисляя их до воды, оксидов углерода и высших оксидов других элементов. В биологических системах озон оказывает избирательное действие на соединения с двойными и тройными связями, включая белки, аминокислоты и ненасыщенные жирные кислоты, которые являются компонентами липопротеиновых комплексов в плазме и липидного бислоя клеточных мембран. Эти реакции составляют основу биологических эффектов озонотерапии, играя значительную роль при различных заболеваниях (Дзасохова, 2009; Elvis, Ekta, 2011; Kaldirim et al., 2014; Schwartz-Tapia et al., 2015; Kurai et al., 2018).

Озон – газ, вдыхание которого оказывает токсическое влияние на организм путем воздействия на слизистые поверхности глаз и дыхательных путей, O_3 негативно влияет на сурфактант легких. Флюгге подробно расписал выраженные болезненные состояния, возникающие при попадании озона через дыхательные пути: первоначально на фоне развивается сонливость с последующим нарушением дыхания, которое становится глубоким и неритмичным вплоть до возникновения перерывов в дыхании. И может закончиться смертью в результате паралича дыхания. В ряде работ описаны

результаты исследований токсического воздействия O_3 на организм, проявляющегося в его антикоагуляционном эффекте, при этом легкие пронизаны множеством сливных кровоизлияний. В результате существует предельно допустимая концентрация (ПДК) озона в воздухе рабочего помещения $0,1 \text{ мг/м}^2$, что в 10 раз больше обонятельного порога для человека (Алясова и др., 2012; Улащик, 2013; Кытикова, Гвозденко, 2015; Bocsi et al., 2011; Martinez-Sanchez, 2019).

При наружном (на кожные покровы и раневую поверхность), энтеральном (per os et per rectum) и парентеральном введении в терапевтическом диапазоне концентрации озон не оказывает токсического действия на организм человека (Madrid Declaration on Ozone Therapy, 2010; 2015; 2020). В случае наружного использования высоких концентраций газообразного озона, а также растворов, содержащих O_3 , выявлены противомикробные свойства организмов, обусловленные высокими окислительными свойствами озона. Эффективность воздействия озона наиболее проявляется во влажной среде, так как при разложении озона в воде образуется АФК – гидроксильный радикал, обладающий высокой реакционной способностью (Fagrell, 1994; Wang et al., 2018; Стручков, 2007; Биткина, 2010; Кошелева, 2013).

Антибактериальные свойства озона проявляются в отношении всех видов бактерий, вирусов, грибов и простейших, и обусловлены эти свойства способностью O_3 повреждать целостность оболочек бактериальных клеток, окисляя фосфолипиды и липопротеиды их мембран. А на клетки тканей многоклеточных организмов из-за наличия у них антиоксидантной системы защиты озон не оказывает пагубного влияния (Перетягин, 1991; Кувакина, 2006; Щербатюк, 2010; Fontes et al., 2012; Li et al., 2018).

В основе механизма противовирусного действия озона лежит его способность изменять полипептидные цепи оболочки вируса, расщеплять нити РНК вируса на две части, и, следовательно, прекращать реакции размножения вирусов и препятствовать способности вирусов прикрепляться

к клеткам-мишеням (Miller et al., 2015; Martinez-Sanchez, Delgado-Roche, 2017; Martinez-Sanchez, 2019).

Наиболее восприимчивы к действию озона являются капсулированные вирусы, которые, в отличие от некапсулированных, имеют капсулу, содержащую липиды, подвергающиеся воздействию озона (Murray et al., 2008; Mokoena et al., 2015; Wolf et al., 2018; Martinez-Sanchez, 2019).

Мишенями воздействия озона у млекопитающих служат:

- ненасыщенные жирные кислоты;
- свободные аминокислоты;
- аминокислоты в пептидных связях;
- никотинамид, коэнзимы.

Полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) являются точкой воздействия озона благодаря наличию у них двойных связей. В результате взаимодействия озона с ненасыщенными жирными кислотами и дальнейшего озонолиза наряду с озонидами основными продуктами являются короткоцепочечные и гидрофильные пероксиды. В этом заключается отличие гидропероксидов озона от аутогенных пероксидов липофильного характера, которые являются короткоцепочечными. Незначительное количество пероксидов озона усиливает потребление кислорода кровью во много раз. Стабильность этих пероксидов невелика и они быстро распадаются, поэтому обнаружить их аналитически не удастся (Halliwell et al., 2000; Zaky et al., 2011; Čapek and Roušar, 2021).

В отличие от молекулярного кислорода, которому для выполнения своих аэробных функций необходимы активные ферменты или металлы с переменной валентностью, озон может непосредственно вступать в реакцию с определенными биоорганическими субстратами (Катюхин, 2016; Bocci, 2010; Bocci et al., 2011; Delgado-Roche et al., 2014, 2017, 2018).

Предполагают, что озон действует посредством прямых и непрямых окислительных механизмов. Избирательными мишенями действия озона являются, в первую очередь, двойные связи между атомами углерода и

свободными тиольными группами, принадлежащими ненасыщенным жирным кислотам/стеринам и пептидам/белкам, содержащим остатки цистеина (рис. 1).

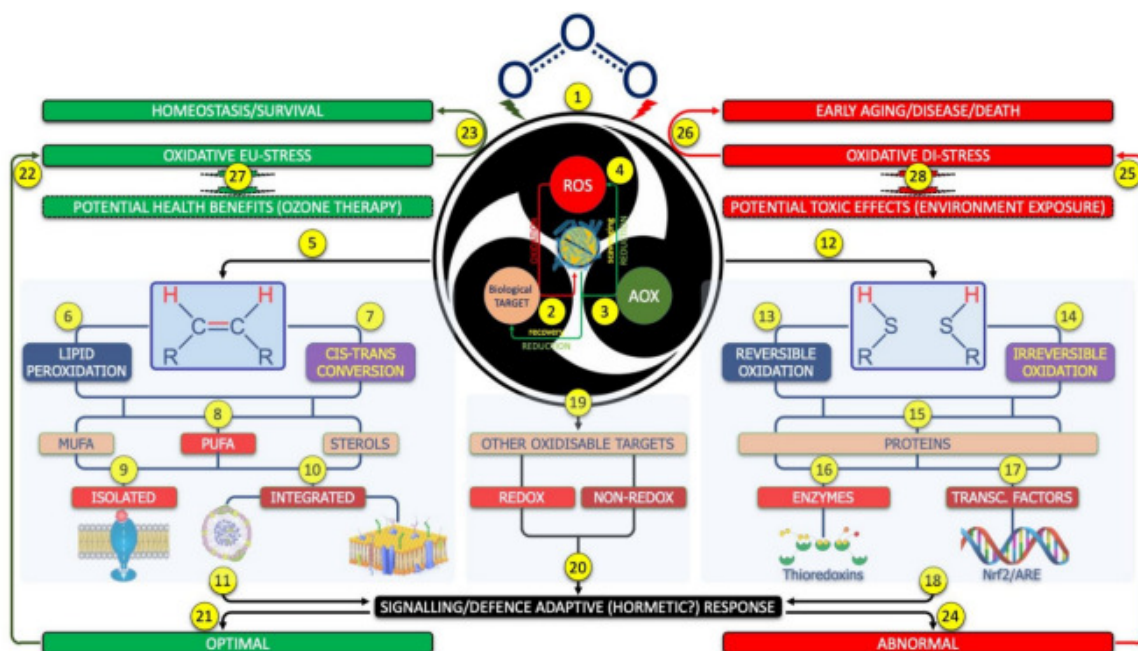


Рис. 1. Окислительно-восстановительная система, окислительный стресс и предполагаемые биологические эффекты озона (по Travagli, Iorio, 2023). Считается, что озон активирует окислительно-восстановительную систему. Окислительно-восстановительная система - это адаптивная биохимическая система, которая использует обмен между реакционноспособными видами окислителей (АФК), биологической мишенью, и восстановительными антиоксидантными видами (антиоксидантной системой – АОС) для модуляции сигнальных и защитных реакций. АФК может извлекать один электрон из биологической мишени (2), модулируя ее функцию, а АОС возвращает электрон биологической мишени (3), переводя ее активность к исходному уровню. АОС может деактивировать повышенный уровень АФК, придавая ему дополнительный электрон (4). Есть две основные мишени для АФК: 1 – двойная связь между атомами углерода (5), окисление которой может привести к перекисному окислению липидов (ПОЛ) (6) или цис–транс-превращению (7) моновенасыщенных жирных кислот, полиненасыщенных незаменимых жирных кислот, стероидов,

холестерина (8). Окисление свободных жирных кислот может оказывать влияние на реактивность клеток (9), в то время как окисление жирных кислот, связанных с фосфолипидами, может оказывать влияние на структуру и функцию циркулирующих липопротеинов и клеточных мембран (10). Окисление липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) под влиянием озона приводит к усилению перекисного окисления липидов (ПОЛ) и изменению структуры клеточных мембран, нарушая энергетический, метаболический и сигнальный поток через них. Все эти изменения могут опосредовать биологические эффекты окислительно-восстановительной системы (11). С другой стороны, АФК могут обратимо (13) или необратимо (14) вступать в реакцию с восстановленными тиолами (12) цистеиновых пар, принадлежащих одному и тому же белку (15), включая ферменты (16) или транскрипционные факторы (17), способствующие, таким образом, адаптационным функциям окислительно-восстановительной системы (18). Наконец, АФК могут воздействовать на другие мишени (19), чувствительные к окислительно-восстановительным процессам (например, окислители, такие как оксид азота, или антиоксиданты, такие как билирубин), что является еще одним адаптационным механизмом, находящимся под контролем окислительно-восстановительной системы (20). Оптимальная реакция окислительно-восстановительной системы (21) может привести к окислительному стрессу (22), необходимому для гомеостаза и выживания (23). Дисфункция окислительно-восстановительной системы может привести к окислительному дистрессу (25), возникающему, например, при ожоге (26).

Озон также может воздействовать на соединения, обладающие, в частности, восстановительной (например, альбумин) или окислительной (например, оксид азота) активностью. Изменяя двойные связи в молекулярных мишенях, озон может влиять на функции, контролируемые: 1) перекисями липидов, которые включают клеточную передачу сигналов и ферроптоз, и 2) эндоканнабиноидной системой, которая участвует в развитии центральной нервной системы и регулирует различные когнитивные и

физиологические процессы, включая контроль боли и иммунитет (Murphy et al., 2016; Joshi, Onaivi, 2019; Lu, Mackie, 2021).

Таким образом, воздействие озона на двойные связи может привести либо к перекисному окислению липидов, либо к цис–транс-изомерному превращению.

В плазме крови озон может воздействовать не только на свободные полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК), но и на этерифицированные ПНЖК. Они связаны с циркулирующими липопротеидами, которые транспортируют несколько липофильных антиоксидантов, таких как убихинол, токоферол и каротиноиды, которые защищают ненасыщенные жирные кислоты и холестерин от окисления. Кроме того, параоксоназа-1, антиоксидантный фермент, связанный с ЛПНП, и ацетилгидролаза, обладающая противовоспалительной активностью и связанная с ЛПВП, помогают предотвратить окисление липидов. В отсутствие антиоксидантной защиты озон окисляет двойные связи этих липидов, включая ЛПНП (Nasezadeh et al., 2017; Travagli, Iorio, 2023).

Цис–транс-изомерное превращение является вторым эффектом, который озон может оказывать на двойную углерод–углеродную связь ненасыщенной жирной кислоты. Одним из источников изомерного превращения является пероксильный радикал, как продукт озонирования. Вторыми потенциальными мишенями озона, после углерод–углеродных двойных связей, являются тиольные группы парных остатков цистеина определенных белков (Schilter, 2017). Окисление в этом случае обычно опосредуется перекисью водорода и может быть обратимым или необратимым (Winterbourn, 2020). Тиоловые радикалы, потенциальные побочные продукты окисления озоном, при определенных условиях могут способствовать цис–транс превращению ненасыщенных жирных кислот. Следовательно, две окисляемые сети, то есть двойные связи углерод–углерод и тиолы, также могут взаимодействовать друг с другом (Travagli, Iorio, 2023).

В дополнение к липидам и органическим тиолам озон потенциально может окислять с разной интенсивностью многие другие циркулирующие молекулярные субстраты (Travagli, Iorio, 2023), влияя на их функции, среди которых: нуклеотиды (микроРНК), белки (комplement, белки коагуляции, протеазы, антипротеазы), гормоны. Непротонированные группы некоторых аминокислот могут быть мишенью для воздействия озона. Воздействуя на сернистую часть метионина и цистеина, озон способен нарушать гомеостаз тиолов (Amorim et al., 2013). O_3 также может вступать в реакцию с аминогруппой алифатических аминокислот (например, изолейцином, лейцином и валином), образуя нитрат или аммиак (Sharma, Graham, 2010; Peretyagin et al., 2012; Ozbay et al., 2017).

Окислительные эффекты озона, как прямые, так и косвенные, также влияют на уровни и реактивность прооксидантов и антиоксидантов, циркулирующих в крови. Потенциальными мишенями для озона являются оксид азота и его метаболиты (нитраты, нитриты, пероксинитриты и нитропроизводные) и ферменты (NO-синтаза, аргиназа, гемоксигеназа). Уровни этих прооксидантов влияют на защиту эндотелия, нейротрансмиссию и защиту от патогенов, которые зависят от доступности кислорода (Travagli, Iorio, 2023).

Рост потребления кислорода организмом был зафиксирован с использованием специальных приборов, измеряющих газы крови, в частности, было отменено выраженное увеличение артерио-венозной разницы по озону (Гусакова и др., 2015; Tezcan et al., 2018).

Озон широко используется в терапевтических целях в различных формах (озоно-кислородные смеси, газификация в закрытых помещениях, озонированные вещества, такие как рыбий жир) и способах введения (парентерально, энтерально, местно). Правильная дозировка, основанная на предполагаемом лечении, имеет важное значение для предотвращения побочных эффектов и осложнений (Перетягин и др., 2011). Дозировка озона не должна превышать возможности антиоксидантных ферментов, поскольку

это предотвратит накопление активных форм кислорода и возникновение окислительного стресса (Elvis, Ekta, 2011; Viebahn-Häensler et al., 2019; Re, 2022).

1.2. Возникновение и механизмы оксидативного стресса

В норме активные формы кислорода (АФК) и антиоксидантная активность сбалансированы, но определенные условия могут нарушить этот баланс в пользу активных форм кислорода. В 1980-х годах Гельмут Зис определил это состояние как "окислительный стресс". Окислительный стресс - это дисбаланс между окислителями и антиоксидантами, при котором избыток окислителей приводит к нарушению окислительно-восстановительной сигнализации, контроля и повреждению молекул (Оксидативный стресс..., 2012; Проскурина, 2018; Nugent, 2019).

Во время окислительного стресса происходит повреждение ДНК, накапливаются продукты окисления белков и липидов, снижается уровень антиоксидантов, а такие прооксиданты, как Fe_2^+ и H_2O_2 , повреждают мембранные липиды и липопротеины. Однако не все прооксиданты и антиоксиданты были полностью идентифицированы, и порог дисбаланса между ними все еще неясен (Меньщикова и др., 2008; Проскурина, 2018).

Окислительный стресс также можно рассматривать как временное или хроническое повышение уровня АФК, влияющее на функцию клеток и передачу сигналов и приводящее к окислительному повреждению клеточных компонентов. Этот дисбаланс может быть вызван либо избыточной выработкой АФК, либо недостаточной антиоксидантной активностью при нормальной выработке АФК (рис. 2). Различные метаболические пути способствуют развитию окислительного стресса, включая фотоокислительный стресс, стресс, вызванный приемом лекарств, стресс, связанный с питанием, и стресс, вызванный факторами окружающей среды (environmental oxidative stress) (Проскурина, 2018; Соловьева, 2020).

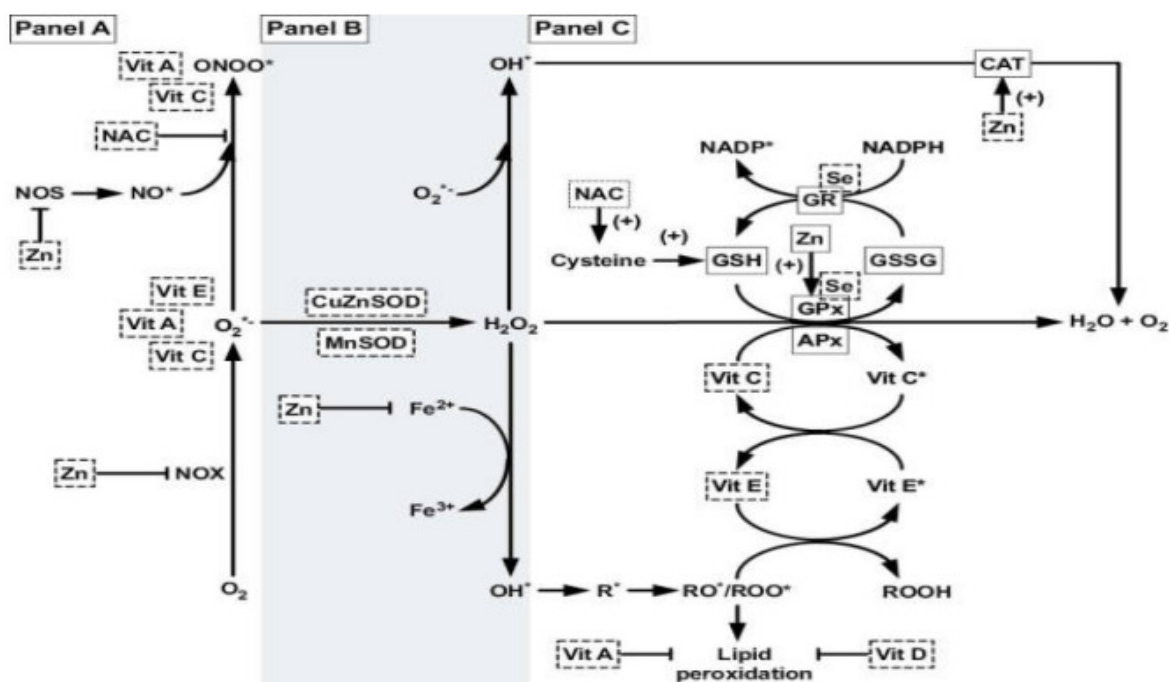


Рис. 2. Схема оксидативного стресса – прерывистой линией обведены участники неферментативного звена антиоксидантной защиты (по Rehou et al., 2018)

Пищевой окислительный стресс возникает при чрезмерном потреблении окислителей наряду с дефицитом пищевых антиоксидантов, таких как витамины E и C, каротиноиды и полифенолы. Постпрандиальный окислительный стресс, один из подтипов, возникает после приема пищи и связан с постпрандиальной гиперлипидемией или гипергликемией и наличием гидроперекисей липидов в пище (Ozougwu, 2016; Проскурина, 2018).

В настоящее время представляют интерес другие виды метаболического стресса, в которых участвуют свободные радикалы – карбонильный, нитрозативный и редуктивный стрессы (Меньщикова и др., 2006; 2008).

Карбонильный стресс обычно возникает наряду с окислительным стрессом. Он относится к острому или хроническому повышению концентрации карбонильных соединений, которые оказывают вредное воздействие на клетки. В настоящее время известно, что более двух десятков карбонильных соединений способствуют развитию карбонильного стресса.

Эти соединения, образующиеся эндогенно, являются промежуточными метаболитами в ферментативных реакциях, таких как гликолиз, полиоловый путь и окисление аминокислот. Однако в большинстве случаев карбонилы эффективно перерабатываются этими путями (Проскурина, 2018; Forman, 2010; Ding et al., 2011).

"Антикарбонильная" защитная система организма, состоящая в основном из таких ферментов, как альдегиддегидрогеназа, альдегидредуктаза и глутатионтрансфераза, помогает предотвратить карбонильный стресс. Глутатионтрансфераза особенно эффективна в детоксикации альдегидов путем катализа их конъюгации с глутатионом (Проскурина, 2018; Crimi et al., 2007; Uno, Nicholls, 2010).

Наряду с оксидативным и карбонильным стрессом, в организме может развиваться нитрозативный стресс – это метаболический стресс, при котором значительно повышается уровень «нитрозантов» – активных форм азота (АФА) – над антиоксидантами, вызывающий повреждение клеточных структур. NO-синтаза, родоначальник АФА, существует в виде нескольких изоформ – нейрональная, эндотелиальная и индуцибельная изоформа, а также митохондриальная NO-синтаза (Соловьева, 2020; Ozougwu, 2016).

Роль данных изоформ разнообразна. Так, большая часть эндотелиального оксида азота (NO) диффундирует в просвет сосуда, где быстро реагирует с гемоглобином крови, при определенных условиях этот аддукт обеспечивает высвобождение NO. Нейрональная NO-синтаза участвует в ретроградном сигналинге в синапсах. Митохондриальная NO-синтаза располагается на внутренней митохондриальной мембране и участвует в регуляции дыхания и образования трансмембранного потенциала. Индуцибельная NO-синтаза экспрессируется макрофагами, лейкоцитами и фибробластами как часть защитного механизма (Forstermann, Sessa, 2012; Ghosh et al., 2017).

Редуктивный стресс, с другой стороны, возникает при избытке антиоксидантов. В этом состоянии уровень АФК снижается, а количество

веществ с высокой восстановительной активностью увеличивается. Одним из примеров является глутатионзависимый редуктивный стресс, который может привести к повреждению митохондрий и цитотоксическим эффектам. Редуктивный стресс и окислительный стресс тесно связаны (Проскурина, 2018; Rivas-Arancibia et al., 2015).

Как окислительный, так и редуктивный стресс вредны и могут привести к патологическим изменениям. Таким образом, антиоксиданты следует использовать с осторожностью при лечении заболеваний. Эндогенные антиредуктивные системы включают акцепторы электронов, такие как S-аденозилметионин, бетаин, карнитин и холин (Проскурина, 2018; Sharma, Graham, 2010).

Повышенный окислительный стресс является основным механизмом эндотелиальной дисфункции, снижая биодоступность NO, способствуя воспалению и участвуя в активации каскада внутриклеточных сигналов, влияя таким образом на активацию ионных каналов, пути передачи сигналов, ремоделирование цитоскелета, межклеточную коммуникацию и, в конечном счете, экспрессию генов. Источником подобного стресса является термическая травма (Crimi et al., 2007).

1.3. Развитие окислительного стресса при термической травме

1.3.1. Ожоги

Ожог является повреждением тканей, вызванным действием высокой температуры, электрическим током, химическим агентом (кислотой или щелочью). Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, ожоги занимают третье, а в некоторых странах (Япония) – второе, место среди повреждений, уступая лишь транспортной травме. В Российской Федерации около 500 тыс. обожженных ежегодно нуждаются в специализированной помощи. Увеличивается количество больных с глубокими и обширными (до 60% поверхности тела и более) ожогами. Остаётся высоким уровень летальности, особенно при обширных глубоких

ожогах. Лечение таких больных является сложным, дорогостоящим, требует усилий врачей различных специальностей (Парамонов и др., 2000; Козлов, 2003; Jackson, 1953).

Согласно классификации МКБ-10, ожоги классифицируются по глубине повреждения:

- I степень: эритема и отек кожи;
- II степень: образование пузырей и выпадение эпидермиса.;
- III степень: некроз кожи и нижележащих тканей, поражающий сухожилия, мышцы и кости.

Ожоги первой и второй степени являются поверхностными и могут заживать без пересадки кожи, в то время как ожоги третьей степени являются глубокими и требуют восстановления кожи. Ожоговая болезнь, характеризующаяся полиорганной недостаточностью, развивается при ожогах третьей степени, покрывающих более 15% тела у взрослых или 10% у детей. В некоторых случаях поверхностные ожоги также могут привести к ожоговой болезни (Wang et al., 2014).

Ожоговая болезнь протекает в четыре стадии:

- 1) Ожоговый шок (эректильная и торпидная стадии),
- 2) Острая ожоговая токсемия,
- 3) Септикотоксемия,
- 4) Выздоровление.

Современные высокотехнологичные стандарты лечения пациентов с тяжелыми ожогами основаны на активных хирургических стратегиях. К ним относятся раннее удаление омертвевших тканей, оперативная подготовка ран к пластике, эффективная пересадка кожи (аутодермопластика), ранние реконструктивные пластические операции, использование современных раневых повязок, трансплантация культивированных клеток кожи, интенсивное переливание жидкости и крови, диагностическая и лечебная фибробронхоскопия, фиброгастроуденоскопия, энтеральная и нутритивная поддержка, комплексные схемы медикаментозного лечения, а также как

хирургические, так и консервативные подходы к лечению ожоговых осложнений (Парамонов и др., 2000; Гольдзон и др., 2007; Мартусевич и др., 2013; Соловьева, 2020).

1.3.2. Нарушение микроциркуляции и стимуляция возникновения активных форм кислорода при ожоговой травме

Ожоги в первую очередь влияют на микроциркуляторную систему организма. Эти нарушения характеризуются:

- 1) изменениями в состоянии микрососудов, включая сужение и вазодилатацию сосудов;
- 2) повреждением эндотелия и сосудистых стенок;
- 3) изменения проницаемости для воды, электролитов и макромолекул;
- 4) пролиферация и регресс сосудов;
- 5) изменения скорости кровотока и застойные явления;
- 6) изменения реологических свойств крови и клеток крови;
- 7) нарушения в системах свертывания и фибринолиза;
- 8) внесосудистые изменения, такие как дегрануляция тучных клеток, повреждение нервов, отек, периваскулярная инфильтрация и изменения в межклеточном матриксе (Микроциркуляция в кардиологии, 2004; Михальчик, 2006; Rosenbaum, Race, 1968; Wolf et al., 1978; Schmid – Schonbein et al., 1992; Stefanovska, Bracic, 1999; Kvandal et al., 2003; Meza et al., 2019).

При ожоговом шоке сердечно-сосудистая система и ткани претерпевают значительные изменения, приводящие к ишемии и нарушениям микроциркуляции. Восстановление кровотока и последующая реперфузия еще больше усугубляют повреждение тканей (Михальчик, 2006; Гусейнов и др., 2013).

Ишемия с последующей реперфузией характерна не только для ожогов, но и играет решающую роль в прогрессировании таких состояний, как шок, инфаркт миокарда, полиорганная недостаточность и артрит. Этот процесс нарушает функцию органа, приводя к отеку, миграции воспалительных клеток, повышению проницаемости сосудов, потере сосудистого тонуса,

дисфункции клеток паренхимы и некрозу. Ишемия, первоначальная рефлекторная реакция, включает спазмы артериол, вызванные быстрой инактивацией адреналина и норадреналина моноаминоксидазой, что приводит к кратковременному эффекту (Михальчик, 2006; Гольдзон и др., 2007; Гольдзон, Малыгина, 2008; Гольдзон, 2009; Гольдзон и др., 2010; Гольдзон и др., 2010; Гольдзон, Долгих, 2011; Гольдзон, Долгих, 2011).

Во время ишемии кислородзависимые метаболические процессы замедляются вместе с кровотоком. Тяжесть этих изменений зависит от типа ткани, продолжительности ишемии и ее причины. Например, кожа более устойчива к ишемии по сравнению с мозгом, и первичная ишемия, вызванная закупоркой кровотока (например, кожными лоскутами во время операции), менее опасна, чем вторичная ишемия, вызванная тромбозом сосудов (Фолков, Нил, 1976; Флейшман, 1998; Михальчик, 2006; Ванин и др., 2009).

Активные формы кислорода играют важную роль в повреждениях, вызванных ишемией и реперфузией. Во время ишемии из АТФ и нуклеиновых кислот образуются свободные радикалы, что приводит к образованию пуриновых оснований. Процесс превращения "гипоксантин → ксантин → мочевая кислота" катализируется ксантиноксидоредуктазной системой. Ксантиноксидазы (КСО), включая ксантиноксидазу и ксантиндегидрогеназу, представляют собой два молибден- и железосодержащих фермента, обнаруженных в различных тканях млекопитающих (Михальчик, 2006; Schmid – Schonbein et al., 1997; Rehou et al., 2018; Wu et al., 2018).

В нормальных условиях преобладает ксантиндегидрогеназа. Однако во время ишемии она превращается в ксантиноксидазу, что приводит к образованию супероксидных анионов (Михальчик, 2006; Bartz, Piantadosi, 2010).

Супероксид является продуктом реакции ксантиноксидазы с ксантином. Пероксинитрит также может индуцировать превращение ксантиндегидрогеназы в оксидазу (Lee et al., 2020).

Кислородные радикалы , накапливающиеся после ишемии/реперфузии, образуются в ходе двух фаз: ранней фазы, наблюдаемой перед притоком активированных лейкоцитов, и более медленного, но более выраженного повышения возникновения радикалов параллельно с подъемом уровня лейкоцитов (Михальчик, 2006; Tenland, 1982; Zhou et al., 2008).

Этот ишемический процесс возникает при термической травме. Ингибиторы КСО, такие как аллопуринол и оксипуринол, подавляют раннюю фазу выработки АФК и отложение нейтрофилов в ишемизированных тканях после ожога, предотвращая адгезию лейкоцитов в постишемических микрососудах (Bollinger et al., 1993; Borgos, 1994; Heart rate variability..., 1996).

Разрушение сосудистого эндотелия и кератиноцитов вследствие ишемии приводит к некрозу и отеку (Нормальная физиология, 1999). Повышенные концентрации АФК, гистамина, лейкотоксинов и пептонов в местах ожогов вызывают повышенную проницаемость сосудов (Михальчик, 2006; Hashmi, Haith, 2019).

В течение одного часа после термической травмы активность КСО в плазме повышается из-за образования отека на коже и дерме обожженных крыс. Удаление поврежденной кожи снижает активность КСО в плазме, что указывает на то, что поврежденная кожа является основным источником КСО в плазме при термической травме. Каталаза, супероксиддисмутаза, диметилмочевина и хелатирующие вещества железа уменьшают увеличение кожной перфузии (Nakata et al., 1998; Kvernmo et al., 1999; Donato et al., 2015).

Активация КСО приводит к повышенной секреции гистамина тучными клетками, мембраны которых повреждаются АФК, запуская цикл аутоиммунных повреждений с помощью вазоактивных медиаторов тучных клеток (Михальчик, 2006; Strudwick et al., 2018).

Вторая фаза постишемического повреждения микрососудов и дермы, опосредованная нейтрофилами, наступает через несколько часов после ожога. Количество нейтрофилов в поврежденной коже резко возрастает, достигая максимума через четыре часа после травмы, в то время как активность

миелопероксидазы (МПО) достигает максимума через 24 часа (Kalyanaraman, 2013; Mulder et al., 2021).

При ожогах у человека нейтрофилы быстро накапливаются в течение 6-12 часов, за ними следуют макрофаги. При поверхностных ожогах уровень нейтрофилов снижается через 48 часов, в то время как при более глубоких ожогах количество нейтрофилов продолжает расти. Хотя активность МПО первоначально не повышается в течение первых шести часов, она достигает максимума через 24 часа, постепенно снижаясь в течение следующих семи дней (Михальчик, 2006; Mulder et al., 2021).

Патологические изменения в дерме, вызванные нейтрофилами и свободными радикалами после ожога, нарушают микроциркуляцию в течение четырех часов и зависят от концентрации провоспалительных цитокинов. Самые высокие уровни малонового диальдегида (МДА) и некротизированных тканей наблюдаются через 48 часов после ожога (Михальчик, 2006; Filippou et al., 2007).

В кожном лоскуте с признаками ишемии, который хирургически приподняли и вернули на место, также отмечено повышение активности МПО и малонового диальдегида. Внутривенное введение аллопуринола снижало концентрацию МПО и МДА, а внутримышечное введение витамина Е уменьшало только уровень МДА и незначительно – МПО (Михальчик, 2006; Mulder et al., 2021).

Параллельное повышение уровней МПО и МДА позволяет предположить прямую связь между повышением активности МПО и усилением перекисного окисления липидов (ПОЛ). Гипохлорит, продукт реакции, катализируемой МРО, также может вызывать образование свободных радикалов, взаимодействуя с ненасыщенными липидами и органическими гидропероксидами (Михальчик, 2006; Yakhno, 2010).

Таким образом, ожоговые травмы вызывают повреждение тканей, что приводит к чрезмерной выработке АФК (Filippou et al., 2007). Повышенная выработка АФК в сочетании с истощением антиоксидантной системы

(Михальчик, 2006; Beiraghi-Toosi et al., 2018) запускает окислительный стресс, приводящий к системной воспалительной реакции (Brusselsaers et al., 2010; Beiraghi-Toosi et al., 2018). Это в конечном итоге приводит к полиорганной недостаточности при ожоговых травмах (Yoshikawa, Kondo, 1990; Sayeed, 1998) (рис. 3).



Рис. 3. Роль окислительного стресса в развитии полиорганной недостаточности при ожоговой травме

Во время окислительного стресса после ожога накопление АФК нарушает функцию органов, что приводит к полиорганной недостаточности. Это вызвано усиленным катаболизмом белка, нарушением сокращения сердечной мышцы (Yoshikawa, Kondo, 1990), спазмами кровеносных сосудов головного мозга, расширением мышечных капилляров (Sayeed, 1998), повреждением эндотелиальных клеток и дисфункцией нескольких органов, включая надпочечники и щитовидную железу, почки, печень и кишечник, что часто приводит к эрозивным кровотечениям (Соловьева, 2020).

Активация процессов свободнорадикального окисления при ожоговой болезни может быть связана с тем, что в ответ на столь мощный окислительный стресс организм не успевает синтезировать антиоксиданты (Beiraghi-Toosi et al., 2018).

1.3.3. Механизм развития окислительного стресса при ожоге

Возникающее через несколько часов после ожога нарушение работы микроциркуляторного русла и повреждение микрососудов обусловлено участием нейтрофилов, на что указывает снижение выраженности этих нарушений после исчезновения нейтрофилов из раны и после прекращения их поступления в ожоговую рану (Михальчик, 2006). Окислительное повреждение и механизм «респираторного взрыва при ожоге»: NADPH-оксидаза расположена в клеточной мембране активированных фагоцитарных клеток (макрофагов и нейтрофилов) переносит электроны (e^-) через мембрану с образованием большого количества супероксидного аниона ($O_2^{\cdot-}$) и других биологически важных АФК, таких как перекись водорода (H_2O_2). Кроме того, хлорноватистая кислота ($HOCl$) является еще одной из АФК, образующаяся в фагоцитарных клетках при взаимодействии H_2O_2 с протоном (H^+) в присутствии миелопероксидазы. Постоянное увеличение производства АФК может привести к прямому окислительному повреждению после ожога (Parihar et al., 2008; Griggs et al., 2017) (рис. 4).

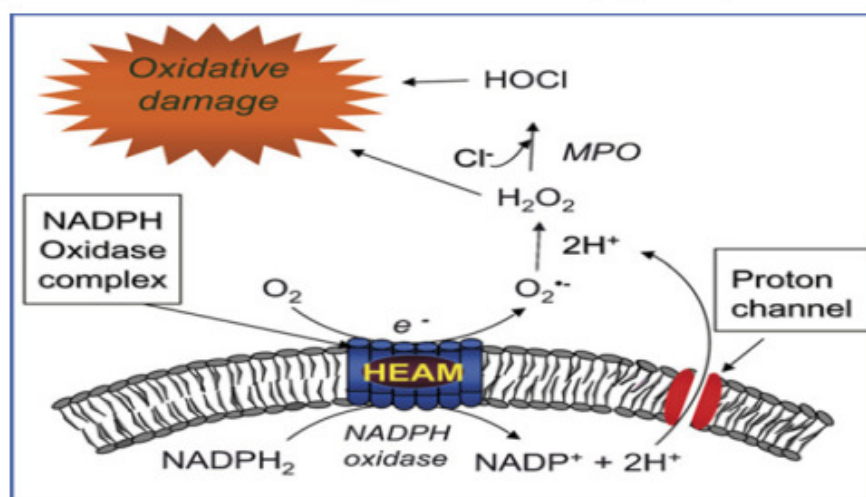


Рис. 4. Оксидативный стресс при ожоговой травме (по Parihar et al., 2008)

Нейтрофилы, помимо выработки активных форм кислорода, также участвуют в выработке оксида азота и нитрующих белков во время воспаления кожи. Миелопероксидаза (МПО), высвобождающаяся при активации и дегрануляции нейтрофилов, может прилипать к стенкам кровеносных сосудов и нитровать фибронектина (Михальчик, 2006; Pisoschi, Pop, 2015).

Нейтрофилы, обнаруживаемые в ожоговых ранах, судя по их морфологическим характеристикам, являются высокоактивными клетками. Они содержат многочисленные фагосомы, заполненные обломками, имеют псевдоподии и демонстрируют повышенный синтез РНК в цитоплазме, что позволяет им быстро прикрепляться к поврежденной ткани и воздействовать на нее. Однако, по сравнению с нейтрофилами циркулирующей крови, эти нейтрофилы из ожоговой раны обладают пониженной способностью поглощать бактерии и более медленным синтезом белка (Беяков, Мельничук, 2020).

Ухудшение состояния ожоговой раны вызвано системным и местным воспалением, которое может привести к перерастанию ожогов второй степени в ожоги третьей степени, потенциально расширяя область повреждения (Михальчик, 2006; Zhang et al., 2020).

Системная воспалительная реакция характеризуется высвобождением незрелых нейтрофилов из костного мозга, вызванным эндотоксинами. Одним из факторов, ухудшающих течение ожоговой болезни, является эндотоксемия, которая возникает из-за попадания бактериальных липополисахаридов в кровотоки (Соловьева, 2020).

Эндотоксины, такие как липополисахарид (ЛПС), являются ключевыми компонентами наружных мембран грамотрицательных бактерий. ЛПС состоит из полисахарида, основного олигосахарида и липида А, который отражает токсические и провоспалительные свойства ЛПС (Zhang et al., 2020).

Регуляторный путь начинается, когда ЛПС связывается с ЛПС-связывающим белком в сыворотке крови, который переносит мономеры ЛПС от бактериальных мембран к рецепторам макрофагов, моноцитов или нейтрофилов. Это взаимодействие происходит через рецептор CD14, который существует как в мембраносвязанной, так и в растворимой формах. Это приводит к быстрой индукции воспалительной реакции даже при низких концентрациях ЛПС. Однако механизм, с помощью которого липиды

бактерий отличаются от липидов хозяина, остается неясным, поскольку CD14 не обладает высокой специфичностью. Для более специфического ответа требуется вовлечение других трансмембранных рецепторов, таких как Toll-подобные рецепторы (в первую очередь TLR4) (Михальчик, 2006; Rehou et al., 2018).

Летальность ЛПС определяется повышением образования АФК фагоцитами и усилением ПОЛ. ЛПС может повышать продукцию супероксида перитонеальными макрофагами, этот процесс наиболее выражен при эндотоксемии (Ding et al., 2011; Voronkova et al., 2018).

Повышенный уровень ЛПС при ожоговой травме может служить фактором смертности, приводящим к снижению энергетического потенциала печени и эритроцитов, а также к значительному дефициту глутатиона в печени. Показано, что антиоксидантное лечение (восстановленный глутатион, N-ацетилцистеин, аскорбиновая кислота) восстанавливает энергетический потенциал и нормализует уровень глутатиона в печени, устраняя смертность (Mulder et al., 2021).

Может существовать механизм обратной связи, предотвращающий чрезмерную активность нейтрофилов во время эндотоксемии. Окисленные фосфолипиды, образующиеся при дыхательном выбросе, ингибируют молекулы адгезии и снижают взаимодействие ЛПС с ЛПС-связывающими белками, таким образом предотвращая активацию NF-κB и защищая от эндотоксического шока (Михальчик, 2006; Gomez-Crisostomo et al. 2014; Beiraghi-Toosi et al., 2018).

ЛПС повышает устойчивость нейтрофилов к апоптозу посредством IL-1 в присутствии моноклеарных лейкоцитов периферической крови (Jones, 2008).

Эндотоксин при влиянии на эндотелиальные клетки, повышает конститутивное выделение ими NO⁻ и активность индуцибельной NO-синтазы (Landry et al., 2009).

Септикотоксемия, которая может развиваться после ожога, нарушает

перфузию органов, усугубляя местную ишемию. АФК, вырабатываемые эндотелиальными клетками посредством ксантиноксидазных или циклооксигеназных путей, подготавливают эндотелий к действию ЛПС, как показано в экспериментах на эндотелиальных клетках. Сыворотка крови пациентов с ожогами увеличивает экспрессию эндотелина-1 (ЕТ-1) при воздействии ЛПС, не влияя на секрецию NO- или простагландина PGI₂ (Sabiston, 1991; Peretyagin, Struchkov, 2013; Rivas-Arancibia et al., 2017; Resitoglu et al., 2018).

Микрофлора кишечника и инфицированные ожоговые раны являются основными источниками ЛПС при ожоговых травмах. Ишемия кишечника, вызванная ожогами, нарушает механический барьер, что приводит к перемещению бактерий. После ожоговой травмы в воротной вене и полой вене было отмечено значительное повышение концентрации ЛПС, причем источником ЛПС является кишечная флора (Михальчик, 2006; Булаева, Голухова, 2013).

Попадание бактерий в кровоток из желудочно-кишечного тракта является основной причиной сепсиса и высокой смертности при ожогах. Антибиотики, разрушающие клеточные стенки бактерий, могут усиливать высвобождение эндотоксинов грамотрицательными бактериями (Uno, 2010).

В ожоговых ранах бактерии в основном накапливаются в некротизированных тканях, под струпами и вдоль внешнего края демаркационной зоны, но не проникают в живые ткани (Михальчик, 2006; Мартусевич и др., 2009; 2011; 2012).

Взаимодействие АФК и АФА играет важную роль в патогенезе ожогов (рис. 5).

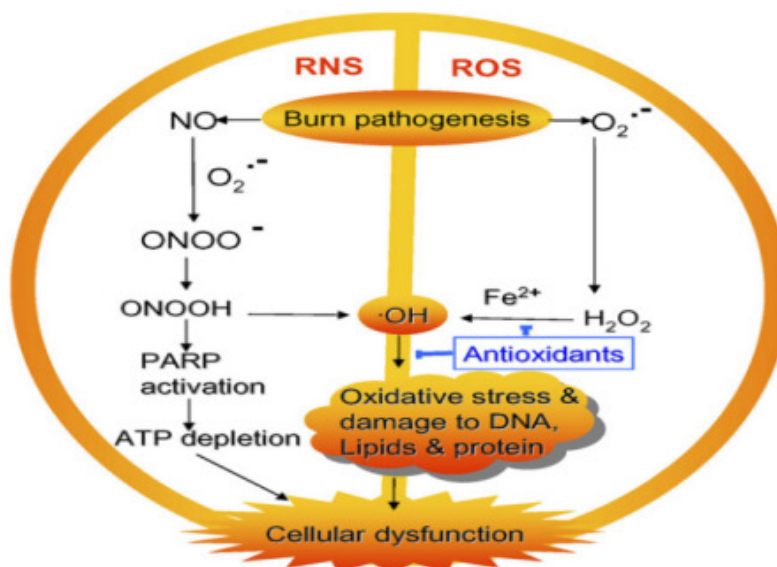


Рис. 5. Влияние активных форм кислорода и азота на патогенез ожоговой травмы (по Parihar et al., 2008)

Как АФК, так и активные формы азота (АФА) способствуют образованию гидроксильных радикалов (ОН[•]), которые ответственны за окислительное повреждение клеточных макромолекул. Оксид азота (NO) играет ключевую роль в подавлении иммунитета после ожогов и может ингибировать пролиферацию клеток путем образования пероксинитрита (ONOO⁻), который повреждает геномную ДНК и активирует поли (АДФ-рибозную) полимеразу-1 (PARP-1), что приводит к истощению энергии и гибели клеток. Как эндогенные, так и экзогенные антиоксиданты могут помочь уменьшить повреждение тканей, вызванное свободными радикалами (Parihar et al., 2008).

Исследования показывают, что АФК и АФА стимулируют воспалительную реакцию, увеличивая секрецию про- и противовоспалительных цитокинов, а также повреждая собственные клетки организма. Окислительный стресс, вызванный дисбалансом между про- и антиоксидантами, усиливает воспаление с помощью стресс-киназ, редокс-чувствительных факторов транскрипции и активирующего белка-1 (AP-1), влияющих на экспрессию медиаторов воспаления (Мельникова, Макарова, 2015; Лукьянчук и др., 2019).

Окислительно-восстановительный баланс клетки зависит от уровня антиоксидантов, в частности от соотношения восстановленного и окисленного глутатиона. Высокие уровни восстановленного глутатиона создают минимальный окислительно-восстановительный потенциал, типичный для пролиферирующих клеток, в то время как низкий уровень восстановленного глутатиона или высокий уровень окисленного глутатиона повышают окислительно-восстановительный потенциал, который связан с апоптозом (Михальчик, 2006; Nabil et al., 2011).

Таким образом, изучение механизмов влияния АФК, в частности, озона, на функциональные параметры сердечно-сосудистой системы и метаболические показатели крови и миокарда в условиях окислительного стресса и их коррекция в раннем постожоговом периоде имеет важное как научное, так и прикладное значение.

Глава 2. Материалы и методы исследования

2.1. Структура и объем исследования

Диссертационная работа представляет собой экспериментальное, рандомизированное, контролируемое исследование. Эксперименты одобрены и утверждены Локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России (протокол №6 от 11.09.2012).

Работа выполнена на 110 белых крысах – самцах линии Wistar массой 180-250 г. (производитель: питомник «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России, г. Москва). Содержание животных осуществлялось согласно «Методическим рекомендациям по содержанию лабораторных животных в вивариях научно-исследовательских институтов и учебных заведений» (РД-АПК 3.10.07.02-09).

Все манипуляции с животными были выполнены в соответствии с правилами Европейской Конвенции ET/S 129, 1986 и директивами 86/609 ES, согласно Приказу Минздрава России № 199н от 01.04.16. Анестезию проводили внутримышечным введением препаратов «Золетил 100» (60 мг/кг) и «Ксила» (6 мг/кг) (Перетягин и др., 2011).

До начала эксперимента животные содержались в карантине в течение 14 суток при стандартных условиях вивария, после чего оценивали физиологическое состояние крыс по характеру слизистых оболочек, уровню двигательной активности, потреблению корма и воды. Перед исследованием все животные были здоровыми, без изменений аппетита, поведения, режима сна и бодрствования.

Исследование включало три этапа (табл. 1). На I этапе: 1) осуществляли выбор безопасной и эффективной дозы озона для дальнейшей терапии комбинированной ожоговой травмы, 2) исследовали дозозависимый эффект парентерально вводимого озона в физиологическом растворе при хроническом его применении. В эксперименте продолжительностью 30 суток использовали 60 крыс, которых распределили на 6 равных по численности групп. Каждый день животным 1-ой опытной группы внутрибрюшинно

вводили 1 мл раствора 0,9% NaCl, с насыщающей концентрацией O₃ в нем 3000 мкг/л от озонатора «Медозонс-Систем». Для животных 2-ой опытной группы насыщающая концентрация O₃ составляла 10000 мкг/л; 3-ей группы – 40000 мкг/л. В растворах NaCl растворяется только 1/5 часть O₃, содержавшегося в газовой фазе, поэтому коэффициент растворимости O₃ для данных растворов составляет 0,2 (Зимин Ю.С., 2006). Следовательно, при принятых условиях эксперимента применение насыщающей концентрации озона 3000 мкг/л при приготовлении озонированного физиологического раствора обеспечит животному получение его в концентрации 0,6 мг/л, а при 10000 мкг/л и 40000 мкг/л – 2 и 8 мг/л, соответственно, что соответствовало получаемым дозам озона 0,6 мкг, 2 мкг и 8 мкг. Крысам 4-й группы вводили раствор без насыщения O₃ (контроль 1), а в 5-ой группе животным вводился физиологический раствор, насыщенный кислородом (контроль 2; pO₂ раствора = 300 мм рт.ст.) (Соловьева и др., 2021). Вывод животных из эксперимента осуществляли путем декапитации под комбинированным наркозом («Золетил 100» (60 мг/кг) и «Ксила» (6 мг/кг)) (Перетягин, Соловьева, 2016).

На II этапе исследования животным под наркозом («Золетил 100» (60 мг/кг) и «Ксила» (6 мг/кг)) моделировали комбинированную термическую травму (КТТ) по методике А.В. Воробьёва и др. (2010), согласно которой крысам сначала наносили контактный термический ожог на площади 20% поверхности тела специально разработанным устройством (Перетягин и др., 2018). Преимуществом использования данного устройства является наличие набора медных пластин различного размера, из которых выбирали подходящую к весу животного, и, скользящим движением, посредством разъемного профильного соединения, осуществляли крепление ее на наконечнике рабочего стержня электрического паяльника. После этого, непосредственно к медной пластине подключали датчик мультиметра в положении «термопара». Провод от электрического паяльника соединяли с регулятором напряжения и подключали к сети (220 В, 50 Гц). Электрическим

паяльником с медной пластиной, после достижения рабочей температуры, лабораторному животному наносили ожог. Термоингаляционную травму моделировали в камере с помощью сухого горючего материала (опилки), который поджигали. Животных размещали на высоте 5 см от горящих опилок 15 секунд (Воробьев и др., 2010; Перетягин и др., 2011).

Таблица 1

Объём и дизайн экспериментального исследования

Этапы исследования	Группы исследования	Условия эксперимента	Методы исследования	Объект исследования / Биологический материал	Сутки исследования	Кол-во животных
I	Контроль	Интактные крысы	микроциркуляция; ВСП; спектральный анализ ВСП концентрация глюкозы, лактата, МДА; активность СОД, ЛДГ, АлДГ; интенсивность СРО и ОАА концентрация МДА; активность СОД; интенсивность СРО и ОАА	организм кровь (плазма, эритроциты) гомогенат сердца	1	10
	Контроль 1	1 мл NaCl в/бр.	микроциркуляция; ВСП; спектральный анализ ВСП; концентрация глюкозы, лактата, МДА; активность СОД, каталазы, ЛДГ, АлДГ; интенсивность СРО и ОАА	организм; кровь (плазма, эритроциты)	30	10
	Контроль 2	1 мл NaCl с O ₂ в/бр.				10
	Опыт 1	1 мл NaCl с 0,6мг/л O ₃ в/бр				10
	Опыт 2	1 мл NaCl с 2 мг/л O ₃ в/бр				10
	Опыт 3	1 мл NaCl с 8 мг/л O ₃ в/бр				10
II	Опыт	КТТ	микроциркуляция; ВСП; спектральный анализ ВСП; концентрация глюкозы, лактата, МДА; активность СОД, каталазы, ЛДГ, АлДГ; интенсивность СРО и ОАА	организм; кровь (плазма, эритроциты); гомогенат сердца	1, 3	10
III	Контроль	КТТ + 1 мл NaCl в/бр.	микроциркуляция; ВСП; спектральный анализ ВСП; концентрация глюкозы, лактата, МДА; активность СОД, каталазы, ЛДГ, АлДГ; интенсивность СРО и ОАА	организм; кровь (плазма, эритроциты); гомогенат сердца	1, 3	10
	Опыт	КТТ + 1 мл NaCl с 0,6мг/л O ₃ в/бр				30

Для оценки площади ожога, которую представляли в процентах к общей поверхности тела, вычисляли площадь поверхности кожи крысы по формуле М. Лее, описанной в 1929 г (Кочетыгов, 1964).

На III этапе исследования в опытной группе животным с термоингаляционной травмой через 1 час после поражения внутрибрюшинно вводили 1 мл NaCl с 0,6мг/л O_3 . В контрольной группе животным с комбинированной термической травмой внутрибрюшинно вводили 1 мл физиологического раствора. В течение всего эксперимента следили за общим состоянием животных, оценивая их аппетит, двигательную активность, массу тела. Животные выводились из эксперимента на 3 день после травмы путем декапитации под наркозом («Золетил 100» (60 мг/кг) и «Ксила» (6 мг/кг)).

2.2. Методы исследования

2.2.1. Исследование вариабельности сердечной деятельности

Регистрацию ЭКГ и расчет параметров ВСР у крыс проводили на аппаратно-программном комплексе «Поли-Спектр – 8/В» («Нейрософт», Россия) при помощи миниатюрных электродов-булавок, при расположении животного в специальном, лежа на животе с соблюдением стандартных условий регистрации кардиоинтервалограммы (рис. 6, 7).

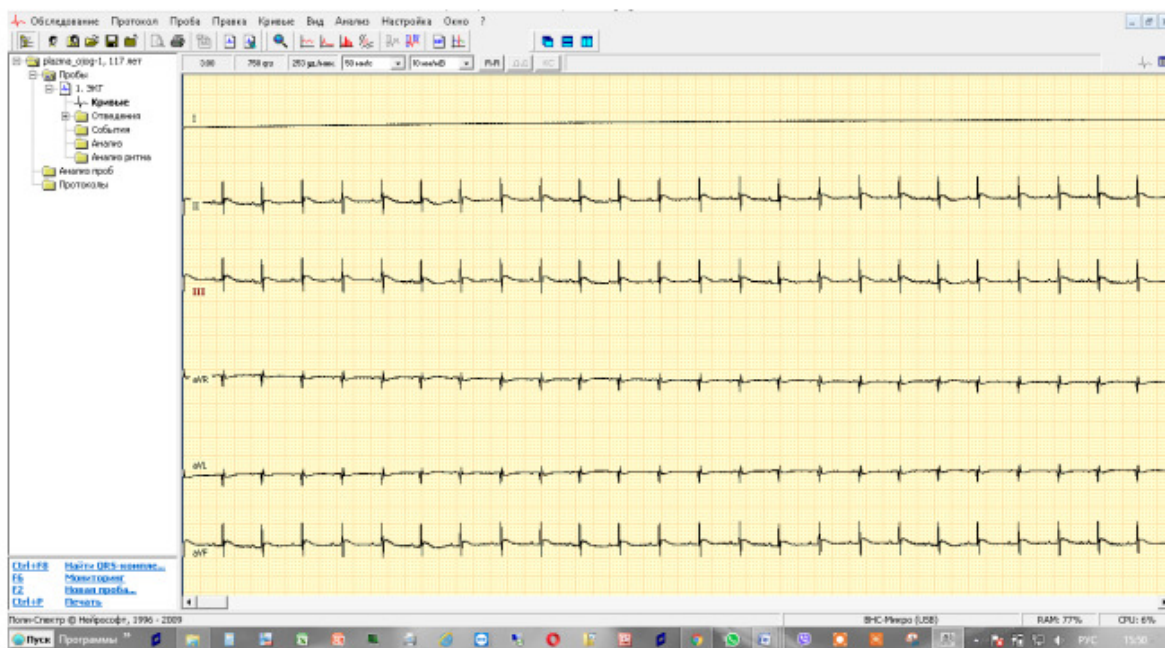


Рис. 6. Пример ЭКГ крысы

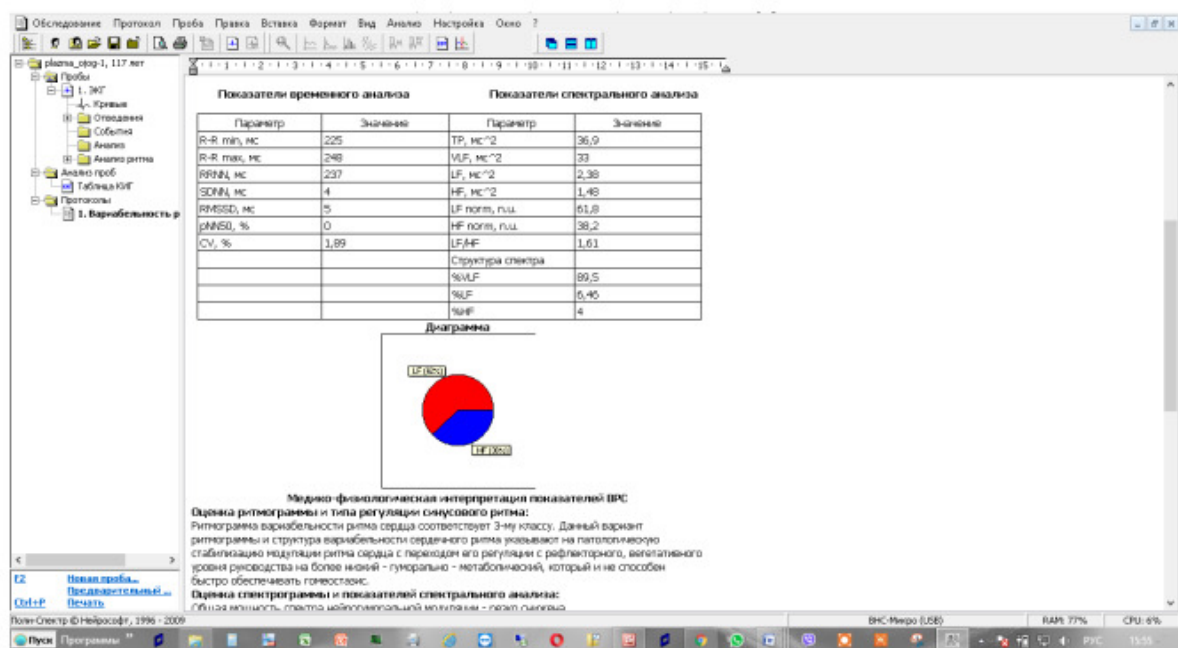


Рис. 7. Спектральный и временной анализ кардиоинтервалограммы

Используя записи ЭКГ, измеряли параметры сердечного ритма, такие как частота сердечных сокращений, самый длинный и самый короткий интервалы R-R и коэффициент вариации (Баевский, Нидеккер, 1968; Жемайтите, 1972; 1980; Удельнов, 1975; Жемайтите и др., 1982; 1988; 1998; Гаврилушкин и др., 1998; Михайлов, 2000; Рябыкина, Соболев, 2000; Akselrod et al., 1981).

На основе ЭКГ была сгенерирована кардиоинтервалограмма с 300 повторными интервалами для расчета параметров вариабельности сердечного ритма, включая показатели вариационной пульсометрии, такие как мода, амплитуда моды, диапазон вариаций, индекс вегетативного ритма, индекс вегетативного равновесия, показатель адекватности регуляторных процессов и индекс напряжения регуляторной системы (Баевский, 1979). Дополнительно, спектральные (общий спектр мощности, мощность высокочастотных волн от 0,9 до 3,5 Гц, мощность низкочастотных волн от 0,32 до 0,9 Гц, мощность очень низкочастотных волн от 0,18 до 0,32 Гц, коэффициент вагосимпатического баланса) и временные (средний интервал R-R, стандартное отклонение частоты колебаний). были проведены анализы всех интервалов R-R, среднееквадратичного значения последовательных

различий интервалов R-R и процента эпизодов с последовательными различиями интервалов более 5 мс) (Chyzh, 2015).

Анализ ВСР во временной области позволил оценить следующее:

Частота сердечных сокращений (ударов в минуту): общий показатель регуляции сердечного ритма (Худякова и др., 2017);

Мода (M_o , сек) – Наиболее частое значение интервала R-R, тесно связанное с математическим ожиданием;

АМо (%) – амплитуда моды, указывающая на вероятность моды и отражающая централизацию управления сердечным ритмом (Худякова и др., 2017);

Вариационный размах (ΔX , сек) – Разница между максимальным и минимальным интервалами R-R, указывающая на вагусную регуляцию сердца (Худякова и др., 2017);

ПАПР (усл.ед.) – показатель адекватности процессов регуляции, равный отношению амплитуды моды к моде, отражающему баланс между активностью симпатической нервной системы и функцией синусового узла;

ИН (усл.ед.) – индекс напряжения регуляторных систем, чувствительный к активации симпатической нервной системы (Худякова и др., 2017) ;

SDNN (сек) – стандартное отклонение всех интервалов R-R, отражающее общее влияние ВНС на синусовый узел;

RMSSD (мс) – среднеквадратичное значение разности последовательных интервалов R-R, показатель способности к концентрации сердечного ритма (Машаех, 2003);

ИВР (усл.ед.) – индекс вегетативного равновесия, представляющий баланс между симпатической и парасимпатической активностью ВНС;

ВПР (усл.ед.) – показатель вегетативного ритма, оценивающий контур вегетативной регуляции. Более низкий ВПР указывает на большее доминирование парасимпатической системы (Машаех, 2003; Турманидзе и др., 2016);

CV (%) – коэффициент вариации, нормализованный по частоте сердечных

сокращений;

pNN5 (мс) – процент эпизодов с разницей между последовательными интервалами более 5 мс.

Проведен спектральный анализ ВСР:

TP (мс²) – общая мощность спектра, отражающая общую регуляцию сердечного ритма (Машаех, 2003; Аникеева и др., 2013);

LF (мс²) – Волны Майера, представляющие активность симпатической нервной системы (0,32–0,9 Гц);

HF (мс²) – дыхательные волны, указывающие на парасимпатическую активность (0,9–3,5 Гц);

VLF (мс²) – волны очень низкой частоты (0,18-0,32 Гц), связанные с центральными механизмами регуляции сердечного ритма (Аникеева и др., 2013);

LF/HF (отн.ед.) – коэффициент вагосимпатического баланса (Смирнов и др., 1999; Аникеева и др., 2013).

Важно отметить, что частотные параметры спектрального анализа ВСР у крыс различаются (Cerutti et al., 1994; Kumaе, 2012; Chyzh, 2015). Для 5-минутной записи ЭКГ можно определить специфические параметры ВСР для данного вида животных (табл. 2).

Таблица 2

Сравнительная видовая характеристика показателей спектрального анализа ВСР

Показатель ВСР	Человек	Мелкое животное (крыса)
TP, мс ²	0,4-0,0033	3,5-0,18
HF, мс ²	0,4 - 0,15	3,5-0,9
LF, мс ²	0,15-0,04	0,9-0,32
VLF, мс ²	0,04-0,0033	0,32-0,18

2.2.2. Исследование микроциркуляции

Уровень микроциркуляции в интактной коже и ожоговой ране оценивали методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) (Крупаткин,

2003; Крупаткин, Сидоров, 2005; 2013) с помощью лазерного анализатора «ЛАКК-М» (исполнение 2) (НПП «Лазма», Россия), ведя запись на протяжении 3 минут.

При исследовании уровня микрогемодикуляции ткани (рис. 8, 9) рассчитывали показатель микродикуляции (ПМ) по формуле:

$ПМ = K \cdot N_{эр} \cdot V_{ср}$, где:

K – коэффициент пропорциональности (K=1);

$N_{эр}$ – количество эритроцитов;

$V_{ср}$ – средняя скорость эритроцитов в зондируемом объеме.

ПМ характеризует средний уровень перфузии (средний поток эритроцитов) в единице объема ткани за единицу времени. ПМ измеряется в перфузионных единицах. Данный показатель дает интегральную оценку состояния микродикуляции исследуемого участка ткани.

Используя программу LDF 3, проводили Вейвлет-анализ для расчета частотных колебаний кровотока с целью выявления роли активных (эндотелиальные колебания (Э) - 0,01–0,08 Гц., нейрогенные колебания (Н) – 0,08–0,2 Гц., миогенные колебания (М) - 0,2–0,7 Гц) и пассивных (дыхательные (Д) - 0,7–2 Гц., сердечные (С) - 2–5 Гц.) факторов регуляции микрокровотока с последующим вычислением показателя шунтирования – ПШ (Сидоров и др., 2003; Коняева и др., 2003; Обыденникова и др., 2007; Almond, 1994).

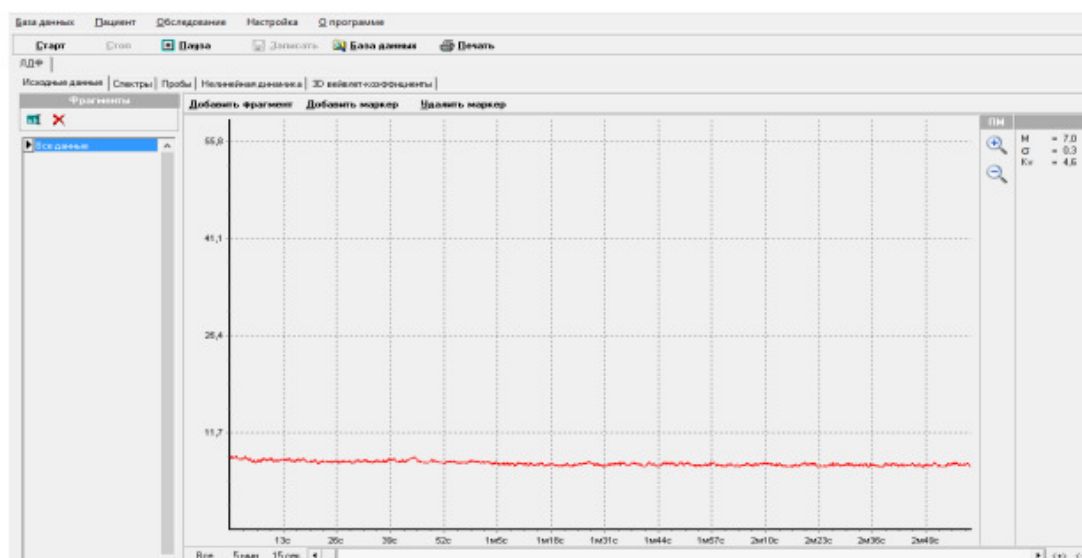


Рис. 8. Пример ЛДФ-граммы крысы

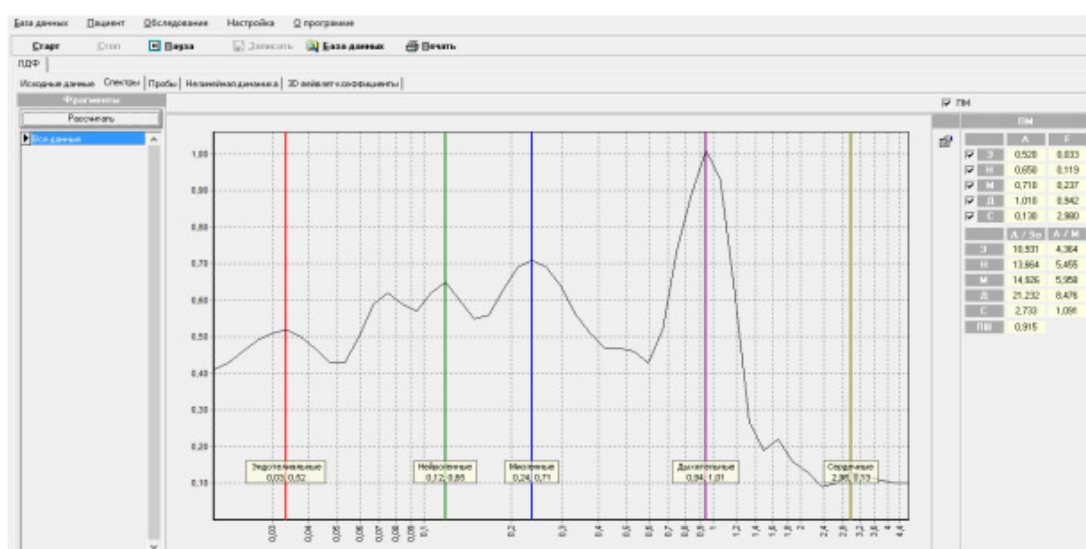


Рис. 9. Пример вейвлет-анализа ЛДФ-граммы крысы

2.2.3. Метод биохемилюминесцентного анализа

Интенсивность СРО оценивали методом биохемилюминесценции (Кузьмина и др., 1993), используя биохемилюминометр БХЛ-06 (Н.Новгород).

Суть метода: перекись водорода каталитически разлагается под влиянием ионов металла с переходной валентностью (Fe^{2+}) по реакции Фентона: $\text{HOON} + \text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{HO}^\bullet + \text{OH}^- + \text{Fe}^{3+}$. Возникающие в результате свободные радикалы инициируют СРО в исследуемом биологическом субстрате. Рекомбинация радикалов $\text{RO}_2^\bullet$ стимулирует возникновение неустойчивого тетроксидов, распадающегося с выделением кванта света (Владимиров, Проскурина, 2009). Поскольку биохемилюминесценция

зависит от влияния большого количества соединений, обладающих как антиоксидантным, так и прооксидантным действием, то данный метод дает возможность оценить уровень компенсаторных возможностей организма.

Последовательность анализа: 100 мкл пробы (гомогенат, плазма или взвесь эритроцитов в 0,9% растворе NaCl (1:4)), разведенные в 400 мкл буфера (фосфатный с pH=7,5), помещали в кювету для хемилюминометра, затем в кювету вносили 400 мкл 0,05 мМ раствора сульфата железа и 0,2% раствора H₂O₂. Затем определяли интенсивность свечения за 30 секунд, оценивая показатели хемилюминограммы:

tg 2α – значение кинетической кривой, характеризующее скорость спада процессов СРО в исследуемом образце и свидетельствующий об общей антиоксидантной активности (ОАА) (Соловьева, 2020);

S – светосумма хемилюминесценции за 30 с. (количество импульсов за 30 с.), характеризующая интенсивность СРО (Кузьмина и др., 1993).

2.2.4. Определение концентрации глюкозы и лактата

Концентрацию глюкозы и лактата определяли в плазме и гемолизате эритроцитов в дистиллированной воде (1:10). Анализ проводили на автоматическом анализаторе глюкозы и лактата Super GL Ambulance (Dr. Muller, Германия).

2.2.5. Метод оценки концентрации малонового диальдегида

Суть метода по М. Mihara et al. (1980): продукты ПОЛ, включая МДА, вступают в реакцию с тиобарбитуровой кислотой (ТБК), формируя окрашенный комплекс, экстрагируемый бутанолом.

Последовательность анализа: к 63 мкл пробы (гомогенат или гемолизат эритроцитов в дистиллированной воде (1:10)) приливали 750 мкл 1,4% ортофосфорной кислоты, 250 мкл 0,5% ТБК, все перемешивали. Состав холостой пробы: 63 мкл дистиллированной воды, 750 мкл 1,4% ортофосфорной кислоты, 250 мкл 0,5% ТБК. Смесь 45 мин держали в

кипящей бане, затем охлаждали и вносили в нее 1000 мкл n-бутанола, затем встряхивали и центрифугировали 10 мин при 1800g. Определяли оптическую плотность в исследуемой пробе против контрольной пробы при 535 и 570нм. Измерения проводили на спектрофотометре Power Wave XS (Bio-Tek, USA). Концентрацию МДА (ТБК-активных продуктов) рассчитывали по формуле:

$$C = \frac{D_{535} - D_{570}}{0,156} \times 16$$

где: С – содержание ТБК-активных продуктов в опытной пробе мкмоль/л;

D_{535} – оптическая плотность опытной пробы при 535 нм;

D_{570} - оптическая плотность опытной пробы при 570 нм;

0,156 – коэффициент молярной экстинкции комплекса МДА-ТБК в л/мкмоль/см;

16 – коэффициент разведения (Соловьева, 2020).

2.2.6. Метод оценки активности супероксиддисмутазы

Суть метода по Т.В. Сироте (1999; 2016): активность СОД определяли по ингибированию образования продукта аутоокисления адреналина.

Последовательность анализа. В кювету от спектрофотометра Power Wave XS (Bio-Tek, USA) вносили 200мкл 0,2М бикарбонатного буфера (pH 10,65), 10мкл 0,1% раствора адреналина и 1 мкл исследуемого раствора с ферментом (гомогенат или гемолизат эритроцитов в дистиллированной воде (1:10)), после чего полученную смесь быстро перемешивали и измеряли величину оптической плотности при 347нм в течение 3 мин. В контрольную пробу раствор фермента не добавляли.

Общую активность фермента (Е) вычисляли по формуле:

$$E (\% \text{ингибирования}) = [1 - (\Delta D_{\text{опыт}} / \Delta D_{\text{контроль}})] \times 100\%,$$

где $\Delta D_{\text{опыт}}$ и $\Delta D_{\text{контроль}}$ – скорости реакции аутоокисления адреналина, соответственно, в присутствии и отсутствии раствора,

содержащего фермент. Активность СОД выражали в условных единицах. За 1 условную единицу принимали 1% ингибирования (Соловьева, 2020).

Удельная активность фермента (Е/б):

$$E/b = \frac{\% \text{ ингибирования}}{b}$$

где b – количество белка, мг.

Удельную активность фермента выражали в условных единицах (% инг)/мин×мг белка или в % инг за 1 мин на 1 г ткани.

2.2.7. Метод оценки активности каталазы

Суть метода по Г.В. Сибгатуллиной и др. (2011): в основе спектрофотометрического метода лежит определение скорости разложения H_2O_2 каталазой исследуемого образца с образованием H_2O и O_2 .

Последовательность анализа. В кювету от спектрофотометра Power Wave XS (Bio-Tek, USA) вносили 295 мкл 50 мМ К,Na-фосфатного буфера (рН 7,0); 3 мкл пробы с ферментом (гомогенат или гемолизат эритроцитов в дистиллированной воде (1:100)); 2 мкл 0,6 М H_2O_2 . В контрольной кювете отсутствовала H_2O_2 . Активность каталазы определяли по изменению оптической плотности при $\lambda=240$ нм через 10 секунд в течение 1 минуты и рассчитывали по формуле: $A = (K \cdot X)/C$, где:

A – активность фермента (мкмоль H_2O_2 /мин×мг);

X – конечное разведение вытяжки в кювете (объём реакционной смеси, разделенный на количество вносимого экстракта);

C – содержание белка в пробе, мг;

$K = (2,3/T) \cdot [\log_{10}(A_1/A_2)]$, где

T – время реакции, мин; A1 – оптическая плотность в начальный момент времени; A2 – оптическая плотность в конечный момент времени.

2.2.8. Метод оценки активности альдегиддегидрогеназы

Суть метода по методу Б.М. Кершенгольд, Е.В. Серкиной (1981): при дегидрогеназном окислении ацетальдегида (субстрат для АлДГ)

спектрофотометрически определяется активность фермента по образованию НАДН.

Последовательность анализа. В кювету от спектрофотометра Power Wave XS (Bio-Tek, USA) вносили 280 мкл 0,1М глицин-щелочного буфера (pH=10), 5 мкл 18мМ ацетальдегида; 10 мкл 0,8мМ НАД, 5 мкл пробы с ферментом (гомогенат или гемолизат эритроцитов в дистиллированной воде (1:40)), перемешивали и измеряли рост оптической плотности при 340нм через 15 секунд в течение 1 минуты. Активность АлДГ (А) рассчитывали по формуле 1:

$$A = \frac{\Delta E_{340} \times V \times 10^9}{e \times b \times v \times l}, \text{ где}$$

ΔE_{340} – величина оптической плотности измеренной при 340нм и рассчитанной следующим образом: $\Delta E_{340} = (\Delta E_1 - \Delta E_2 / 2) + \Delta E_2$

$$\Delta E_1 = E_{30} - E_0; \Delta E_2 = E_{60} - E_0;$$

V – общий объем реакционной смеси, мл;

10^9 – коэффициент пересчета моль в нмоль;

e – молярный коэффициент экстинкции НАДН – $6,22 \times 10^6$ моль⁻¹см⁻¹;

t – время, в течение которого измеряют активность фермента, 1 мин;

v – объем пробы;

l – толщина кюветы;

b – количество белка в пробе в мг (или ткани в г).

Активность АлДГ выражали в нмоль НАДН за 1 мин на 1 мг белка или мкмоль НАДН за 1 мин на 1 г ткани (Соловьева, 2020).

2.2.9. Метод оценки активности лактатдегидрогеназы

Суть метода по Г.А. Кочетову (1980). Активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) определяли в прямой реакции (ЛДГпр) с использованием в качестве субстрата молочной кислоты и в обратной реакции (ЛДГобр) с применением в качестве субстрата пировиноградной кислоты. В прямой реакции, катализируемой ЛДГ, под воздействием

фермента на молочную кислоту происходило восстановление НАД, в обратной реакции под влиянием ЛДГ отмечалось окисление НАДН. Активность ЛДГ оценивали спектрофотометрически по убыли (для ЛДГобр) или росту (для ЛДГпр) величины оптической плотности при длине волны 340 нм.

Последовательность анализа. Для определения активности ЛДГпр в кювету от спектрофотометра Power Wave XS (Bio-Tek, USA) вносили 270 мкл 100мМ глицинового буфера (pH 9,6), 10 мкл пробы с ферментом (гомогенат или гемолизат эритроцитов в дистиллированной воде (1:40)), 10 мкл 50мМ лактата натрия, 10 мкл 20 мМ НАД. Для определения активности ЛДГобр в кювету помещали 270 мкл 100мМ фосфатного буфера (pH 7,4), 10 мкл пробы с ферментом (гомогенат или гемолизат эритроцитов в дистиллированной воде (1:40)), 10 мкл 23 мМ пирувата натрия и 10 мкл 5 мМ НАДН. Содержимое кюветы для определения активности ЛДГпр или ЛДГобр перемешивали и измеряли изменение оптической плотности при 340 нм через каждые 15 секунд в течение 1 минуты (Соловьева, 2020).

Активность ЛДГ рассчитывали по формуле 1 и выражали в нмоль НАДН за 1 мин на 1 мг белка или мкмоль НАДН за 1 мин на 1 г ткани.

Учитывая активность ЛДГ в прямой и обратной реакциях, оценивали выраженность нарушений энергетического метаболизма в тканях, рассчитывая коэффициент баланса энергетических реакций (КБЭР): $\text{КБЭР} = (\text{ЛДГпр}/\text{ЛДГобр}) / (\text{ЛДГобр}/\text{ЛДГпр}) \times 100$ (Соловьева, Зимин, 2010; 2012).

2.2.10. Определения концентрации белка

Для оценки удельной активности ферментов в пробах определяли концентрацию белка в мг/мл по методу V.F. Jr. Kalb, R.W. Bernlohr (1977) на спектрофотометре Power Wave XS (Bio-Tek, USA) с помощью формулы: $C = 183 \times D_1 - 75,8 \times D_2$. Для этого измеряли оптическую плотность D исследуемого раствора при 230 нм (D_1) и 260 нм (D_2), учитывая роль нуклеиновых кислот и нивелируя зависимость величины светопоглощения от аминокислотного

состава индивидуальных белков (Соловьева, 2020).

2.2.11. Приготовление гомогенатов органов

Для получения гомогената сердца экспериментальных животных использовали метод Н.Д. Ещенко (1982). После вскрытия брюшной полости сердце быстро извлекали, многократно промывали его охлажденным физиологическим раствором и измельчали ножницами в чашке Петри, стоящей на льду. Измельченную ткань сердца помещали в стеклянный гомогенизатор Поттера для приготовления 10%-ого гомогената на основе среды выделения, предварительно охлажденной (4С°) и включающей 250 мМ сахарозы, 250 мкМ ЭДТА, 10 мМ, рН=7,4. Ткань гомогенизировали в течение 30-40 секунд и затем центрифугировали 15 мин при 1000g ($t=0 - +2\text{С}^\circ$) на центрифуге с охлаждением MULTIFUGE 1 S-R (Heraeus, Германия) (4С°) для удаления не полностью разрушенных клеток и ядер. Для исследований использовали супернатант (Соловьева и др., 2015).

2.3. Статистическая обработка результатов

Данные были статистически проанализированы с использованием Microsoft Excel и Statistica 6.0 (Statsoft Inc., США). Были рассчитаны средние арифметические значения и стандартные отклонения, а нормальность оценивалась с помощью теста Шапиро-Уилка. Значимость различий между показателями оценивалась с помощью t-критерия Стьюдента с поправкой Бонферрони для множественных сравнений (Гланц, 1999). Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Коэффициент корреляции Пирсона (r) был использован для анализа биохимических показателей с нормально распределенными данными.

Глава 3. Результаты и их обсуждение

3.1. Исследование функционально-метаболических параметров организма при длительном применении озона

3.1.1. Особенности функционирования микроциркуляторного русла и вариабельности сердечного ритма в условиях длительного применения озона в эксперименте

Согласно современным требованиям, продолжительность введения фармакологического вещества при изучении хронической токсичности определяется длительностью его использования в клинике и равняется 1 месяцу при применении от 7 до 14 дней (Руководство по проведению доклинических ... , 2012). Целью хронического эксперимента была характеристика степени возможного повреждающего действия озонированного физиологического раствора при его длительном введении, а именно, его способности вызывать кумулятивный эффект, а также выявление наиболее чувствительных к влиянию озона органов и систем организма.

Исследование состояния микроциркуляторного русла у животных на фоне ежедневного внутрибрюшинного введения озонированного физиологического раствора с разными концентрациями озона (0,6 мг/л, 2 мг/л и 8 мг/л) на протяжении 30 суток представлено в таблице 3.

В результате проведенного исследования выявлены дозозависимые изменения динамики ПМ на 30 сутки после введения озонированного физиологического раствора.

В условиях общей анестезии (золетил и ксила) в группе интактных животных ПМ был $9,45 \pm 0,85$ перф.ед, ПШ – $1,14 \pm 0,08$ перф. ед., параметры регуляторных систем составили: эндотелиальный фактор – $12,93 \pm 1,15$ у.е., нейрогенный фактор – $9,15 \pm 0,86$ у.е., миогенный фактор – $8,37 \pm 0,81$ у.е., пассивные факторы регуляции микроциркуляции (пульсовая волна и дыхательная волна) – $3,33 \pm 0,27$ у.е. и $5,80 \pm 0,49$ у.е. соответственно (табл. 3).

Таблица 3

Состояние микроциркуляции в условиях хронического системного
воздействия озонированного физиологического раствора

	ПМ, перф.ед	Э, у.е.	Н, у.е.	М, у.е.	Д, у.е.	С, у.е.	ПП, перф.ед
Интактные крысы	9,45±0,85	12,93±1,15	9,15±0,86	8,37±0,81	5,80±0,49	3,33±0,27	1,14±0,08
Контроль 1	9,51±0,87	12,79±1,02	9,07±0,85	8,49±0,73	6,07±0,61	3,42±0,33	1,05±0,09
Контроль 2	7,22±0,59 #*	9,73±0,82 #*	4,81±0,42 #*	5,43±0,45 #*	4,52±0,38 #*	2,53±0,19 #*	0,92±0,08 #
Опыт 1 (0,6мг/л О ₃)	10,89±0,92 Δ	6,41±0,52 #*Δ	6,82±0,58 #*Δ	9,74±0,88 Δ	6,11±0,56 Δ	4,89±0,42 #*Δ	0,63±0,05 #*Δ
Опыт 2 (2 мг/л О ₃)	9,31±0,64 Δ	8,43±0,32 #*Δ&	7,13±0,64 #*Δ	7,13±0,67 Δ&	7,53±0,48 #*Δ&	6,93±0,65 #*Δ&	0,91±0,08 #&
Опыт 3 (8 мг/л О ₃)	5,42±0,39 #*Δ& ω	24,01±2,15 #*Δ&ω	5,35±0,18 #*&ω	3,92±0,35 #*Δ&ω	2,39±0,21 #*Δ&ω	1,51±0,12 #*Δ& ω	1,32±0,11 *Δ&ω

Примечание: # - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p<0,05$); * - различия статистически значимы по сравнению с контролем 1 ($p<0,05$); Δ - различия статистически значимы по сравнению с контролем 2 ($p<0,05$); & - различия статистически значимы по сравнению с опытом 1 ($p<0,05$); ω - различия статистически значимы по сравнению с опытом 2 ($p<0,05$).

В отличие от интактных крыс в контроле 1 не обнаружено статистически значимых различий между исследуемыми показателями микроциркуляции. В контроле 2, животные которого на протяжении 30 суток получали внутрибрюшинно растворённый в физиологическом растворе кислород, наряду со сниженным объёмным микрокровоотоком (ПМ уменьшился на 25%, $p=0,031$ от значений интактных крыс) отмечено нарушение баланса регуляторных факторов. Это выразилось в снижении доли участия эндотелиального компонента на 13% ($p=0,028$) от параметра интактных крыс и значимом уменьшении участия нейрогенного (на 45%, ($p=0,015$)), миогенного (на 37%, ($p=0,007$)), дыхательного (на 39%, ($p=0,010$)) и сердечного (на 36%, ($p=0,026$)) компонентов регуляции. При этом усиление нутритивного кровотока на 10% ($p=0,033$) не компенсировало сниженного объёма микрокровоотока (ПМ).

В конце срока наблюдения (30 суток ежедневного воздействия)

введение озона в физиологическом растворе в низкой концентрации (0,6 мг/л Оз) сопровождалось увеличением микрокровотока на 14% по сравнению с показателями контроля 1 и составило $10,89 \pm 0,92$ ($p=0,014$). Это было на 39% ($p=0,003$) выше по сравнению с показателями контроля 2. Пиальный микрокровоток в этой ситуации был также выше, чем в контроле 2, показатель шунтирования составил 60% по сравнению с контролем 1, что создавало более оптимальные условия жизнеобеспечения тканей в условиях их хронической перфузии активными формами кислорода.

Хроническое парентеральное воздействие на животных озона в физиологическом растворе в больших концентрациях сопровождалось постепенным дозозависимым снижением показателя микроциркуляции: после 30-дневного применения 2 мг/л озона ПМ составил $9,31 \pm 0,84$ пер.ед., после использования 8 мг/л Оз ПМ был равен $5,42 \pm 0,39$ пер.ед. Эффективность микроциркуляции при концентрациях озона 0,6 мг/л и 2 мг/л в физиологическом растворе поддерживалась снижением шунтирования крови на периферии: ПШ был значимо меньше 1. При хроническом воздействии 8 мг/л озона ПШ возрос на 26% по сравнению с показателем контроля 1 и стал больше 1.

Поскольку кровь циркулирует в сосудистой системе, мишенью действия озона после воздействия озонированного физиологического раствора выступает гликокаликс эндотелия, который очень чувствителен к окислительному и воспалительному повреждению (Travagli, Iorio, 2023).

Полученные в ходе исследования данные статистического, временного и спектрального анализа вариабельности синусового ритма сердца позволили выявить характерные изменения вегетативной регуляции у животных, подвергшихся длительному воздействию озона с различной оксидативной нагрузкой. В условиях длительного воздействия как физиологическим раствором (контроль 1), так и раствором, насыщенным кислородом (контроль 2), путём парентерального (внутрибрюшного) введения на протяжении 30 суток отмечено незначительное учащение ЧСС. При этом статистически

значимых отличий показателей ВСР у животных в контроле 1 от интактных крыс не выявлено (табл. 4).

Таблица 4

Временной анализ ВСР в условиях хронического системного воздействия озонированного физиологического раствора

Показатель ВСР	Интактные крысы	Контроль 1	Контроль 2	Опыт 1 (0,6мг/л О ₃)	Опыт 2 (2 мг/л О ₃)	Опыт 3 (8 мг/л О ₃)
ЧСС, уд./мин	228,31 ±21,55	234,73 ±14,94	235,11 ±21,34	334,42 ±30,11 #*Δ	275,35 ±10,23 #*Δ&	271,62 ±9,05 #*Δ&
Мода, с	0,24±0,02	0,24±0,02	0,27±0,03	0,18±0,02 #*Δ	0,22±0,02 Δ	0,23±0,02
АМо, %	31,22±2,85	32,31±4,02	57,11±5,23 #*	33,55±3,01 Δ	46,94±1,26 #*Δ&	39,81±1,62 #*Δ&ω
Вариационный размах, с	0,15 ±0,01	0,14 ±0,01	0,25 ±0,02#*	0,05 ±0,00#*Δ	0,05 ±0,00#*Δ	0,04 ±0,00#*Δ
ПАПР, у.е.	130,08 ±16,43	134,63 ±17,11	211,52 ±34,89#*	186,39 ±17,38#*	213,36 ±8,22#*	173,09 ±6,14#*ω
RMSSD, мс	35,71±1,19	33,49±0,41	38,64±2,52 *	4,69±0,43 #*Δ	4,33±0,39 #*Δ	3,37±0,31 #*Δ&ω
ИН, у.е.	381,82 ±34,63	390,41 ±26,69	1295,01 ±117,22 #*	2176,18 ±198,21 #*Δ	5470,11 ±497,85 #*Δ&	3569,12 ±324,78 #*Δ&ω
SDNN, с	26,13±2,41	24,83±0,44	33,02±3,11 #*	8,07±0,73 #*Δ	3,47±0,31 #*Δ&	3,81±0,34 #*Δ&
ИБР, у.е.	215,71 ±19,58	231,42 ±12,01	834,13 ±76,48 #*	787,18 ±71,51 #*	2260,23 ±205,63 #*Δ&	1542,09 ±140,22 #*Δ&ω
ВПР, у.е.	51,12 ±4,59	53,62 ±16,93	10,61 ±0,96 #*	168,14 ±15,28 #*Δ	350,95 ±31,87 #*Δ&	251,25 ±23,12 #*Δ&ω
CV, %	13,71±0,24	13,24±0,22	14,59±1,02 *	4,39±0,39 #*Δ	1,49±0,13 #*Δ&	1,68±0,15 #*Δ&
pNN5, мс	17,31±1,59	16,93±0,45	14,72±0,33 #*	2,14±0,19 #*Δ	3,91±0,35 #*Δ&	6,28±0,57 #*Δ&ω

Примечание: # - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p<0,05$); * - различия статистически значимы по сравнению с контролем 1 ($p<0,05$); Δ - различия статистически значимы по сравнению с контролем 2 ($p<0,05$); & - различия статистически значимы по сравнению с опытом 1 ($p<0,05$); ω - различия статистически значимы по сравнению с опытом 2 ($p<0,05$).

Установлено, что при хроническом системном воздействии кислородсодержащего физиологического раствора, повысилась активность гуморального канала регуляции ритма сердца, при этом амплитуда моды

возросла на 77% ($p < 0,001$) в отличие от значения у крыс 1 контрольной группы, свидетельствуя тем самым об усилении симпатической активности вегетативной нервной системы. В схожей степени увеличился вариационный размах на 79% ($p = 0,011$) от контроля 1, подтверждая возросшую степень вариативности значений кардиинтервалов. Другие расчётные показатели пульсометрии у животных 2 контрольной группы характеризовались следующими изменениями: увеличенными были RMSSD – на 15% ($p = 0,027$) и SDNN – на 33% ($p = 0,019$) от контроля 1, что говорило о возросшей активности автономного контура регуляции и увеличивало вариабельность признака, коэффициент изменчивости при этом возрастал на 10% ($p = 0,035$) от контроля 1. В то же время у крыс 2 контрольной группы возросли ИН (классический индекс Баевского) и ИВР в 3,3 раза ($p < 0,001$) и в 3,6 раза ($p < 0,001$) соответственно в отличие от показателей крыс 1 контрольной группы. Такие изменения регуляторных факторов вегетативной нервной системы могли свидетельствовать о формирующейся их дисрегуляции и способствовать дезадаптивности кислородзависимых регуляторных механизмов в условиях хронической кислородной интоксикации (Дворников и др., 2003; Жукова др., 2012; Hon, Lee, 1965; Sayers, 1973).

Под влиянием одной из АФК – ОЗ в физиологическом растворе – наблюдалось явно выраженное дозозависимое изменение функционального состояния вегетативной регуляции ритма сердца. Продолжительное (30 суток) использование озона в низкой концентрации (0,6 мг/л) приводило к учащению сердцебиений у крыс на 46% ($p = 0,012$) в отличие от интактных животных (табл. 4). Значение Моды, характеризующей состояние гуморального канала регуляции ритма сердца, было меньше показателя интактных крыс на 25% ($p = 0,029$), и сама амплитуда моды была сопоставима с показателем интактных крыс ($p = 0,951$). О повышении уровня симпатической активности ВНС свидетельствовал рост ИН в 5,7 раза ($p < 0,001$) в отличие от значения интактных крыс. Сравнительный анализ, проведённый между показателями ВСР 1 опытной группы (0,6 мг/л О₃) по сравнению с соответствующими

параметрами 2 контрольной группы с хроническим воздействием кислородсодержащего раствора, показал в опыте 1 значимо меньшую степень включения парасимпатических влияний на ритм сердца: RMSSD, как показатель, отражающий активность парасимпатического звена регуляции и активность автономного контура, был ниже в 8,2 раза ($p<0,001$), вариационный размах, показывающий степень изменчивости значений кардиоинтервалов, уменьшился в 5 раз ($p<0,001$), а коэффициент вариации CV снизился в 3,3 раза ($p<0,001$).

Хроническое воздействие озоном в больших концентрациях (2 мг/л озона и 8 мг/л O_3) повлияло на показатели пульсометрии: ЧСС и во 2, и в 3 опытной группах была выше показателя интактных крыс на 21% ($p=0,034$) и 19% ($p=0,018$), но ниже показателя 1 опытной группы на 18% ($p=0,021$) и 19% ($p=0,030$) соответственно; не было выявлено статистически значимых различий между Мо 2 и 3 опытных групп в сравнении с Мо интактных крыс и 1 опытной группы; однако, АМо возросла во 2 и 3 опытных группах на 50% ($p=0,004$) и 28% ($p=0,017$) в отличие от АМо интактных крыс и на 40% ($p=0,001$) и 19% ($p=0,023$) соответственно в отличие от данного параметра 1 опытной группы, но АМо во 2 и 3 опытных группах была ниже показателя 2 контрольной группы с оксигенированным раствором на 18% ($p=0,035$) и 30% ($p=0,016$) соответственно. При этом во 2 и 3 опытной группах в большей степени проявлялись механизмы симпатических влияний на ритм сердца, наиболее выраженные во 2 опытной группе (2 мг/л O_3), в которой возросли ИН, ИВР, ВПР в отличие от интактных крыс (в 14 раз ($p<0,001$), в 11 раз ($p<0,001$), в 7 раз ($p<0,001$) соответственно), контроля 2 (в 4 раза ($p<0,001$), в 3 раза ($p<0,001$), в 33 раза ($p<0,001$) соответственно) и опыта 1 (в 2,5 раза ($p<0,001$), в 3 раза ($p<0,001$), в 2 раза ($p<0,001$) соответственно). В 3 опытной группе (8 мг/л озона) активность симпатических влияний тоже увеличилась в отличие от показателей крыс опыта 1, но в значительно меньшей степени по сравнению с параметрами крыс 2 опытной группы: в 3 опытной группе показатели ИН, ИВР, ВПР, ПАПР увеличились в 9 раз ($p<0,001$), в 7 раз

($p<0,001$), в 5 раз ($p<0,001$), на 33% ($p=0,024$) соответственно по сравнению с параметрами интактных крыс (табл. 4).

Полученные результаты спектрального анализа ВСР у интактных животных под комбинированным наркозом и крыс контрольных и опытных групп представлены в таблице 5.

Таблица 5

Спектральный анализ ВСР в условиях хронического системного воздействия озонированного физиологического раствора

Показатель ВСР	Интактные крысы	Контроль 1	Контроль 2	Опыт 1 (0,6мг/л О ₃)	Опыт 2 (2 мг/л О ₃)	Опыт 3 (8 мг/л О ₃)
TP, мс ²	25,92±2,31	24,79±0,42	4,94±0,44 #*	3,35±0,29 #*Δ	3,45±0,31 #*Δ	4,01±0,16 #*Δ&ω
LF, мс ²	6,21±0,56	5,72±0,11	2,09±0,18 #*	4,66±0,02 #*Δ	4,62±0,03 #*Δ	4,86±0,07 #*Δ&ω
HF, мс ²	17,62±1,59	17,24±0,29	2,67±0,24 #*	2,35±0,21 #*	2,81±0,15 #*&	2,85±0,25 #*&
VLF, мс ²	2,11±0,19	1,98± 0,03	0,17±0,01 #*	0,35±0,03 #*Δ	0,12±0,01 #*&	0,29±0,03 #*Δω
LF/HF, отн.ед.	0,35±0,02	0,33±0,01	0,78±0,07 #*	1,98±0,02 #*Δ	1,64±0,03 #*Δ&	1,71±0,03 #*Δ&

Примечание: # - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p<0,05$); * - различия статистически значимы по сравнению с контролем 1 ($p<0,05$); Δ - различия статистически значимы по сравнению с контролем 2 ($p<0,05$); & - различия статистически значимы по сравнению с опытом 1 ($p<0,05$); ω - различия статистически значимы по сравнению с опытом 2 ($p<0,05$).

Хроническое внутрибрюшинное воздействие физиологическим раствором (контроль 1) не оказало влияния на показатели спектрального анализа ВСР по сравнению с параметрами интактных животных.

Применение кислородсодержащего физиологического раствора (контроль 2) вызвало снижение всех исследуемых показателей при спектральном анализе ВСР: TP – в 5 раз ($p<0,001$), LF – в 3 раза ($p<0,001$), HF – в 6,6 раза ($p<0,001$), VLF – в 12 раз ($p<0,001$) относительно параметров интактных крыс, при этом коэффициент вагосимпатического баланса (LF/HF) увеличился в 2 раза ($p<0,001$). Эти изменения свидетельствовали о снижении стрессоустойчивости организма и адаптационных возможностей CCC,

уменьшении активности центральных эрготропных и гуморально-метаболических механизмов регуляции сердечного ритма на фоне активации симпатической нервной системы (Скоромец, 2009).

Спектральный анализ ВСР крыс в условиях хронического воздействия разных доз озона выявил аналогичные изменения его показателей, что и в контроле 2. В отличие от параметров интактных животных у крыс 1 опытной группы озон в концентрации 0,6 мг/л вызвал снижение общей мощности спектра колебаний кардиоритма (TP) в 8 раз ($p < 0,001$), LF – на 25% ($p = 0,011$), HF – в 7,5 раза ($p < 0,001$), VLF – в 6 раз ($p < 0,001$) и рост LF/HF в 5,6 раза ($p < 0,001$). В отличие от параметров интактных животных у крыс 2 опытной группы озон в концентрации 2 мг/л вызвал уменьшение TP в 7,5 раза ($p < 0,001$), LF – на 26% ($p = 0,030$), HF – в 6 раз ($p < 0,001$), VLF – в 17,5 раза ($p < 0,001$) и рост LF/HF в 5 раз ($p < 0,001$). В отличие от параметров интактных животных у крыс 3 опытной группы озон в концентрации 8 мг/л вызвал снижение общей мощности спектра колебаний кардиоритма (TP) в 6,5 раза ($p < 0,001$), LF – на 22% ($p = 0,017$), HF – в 6 раз ($p < 0,001$), VLF – в 7 раз ($p < 0,001$) и повышение LF/HF в 5 раз ($p < 0,001$) (табл. 5).

Уменьшение во всех трех опытных группах TP (общей мощности спектра колебаний кардиоритма), характеризующей совместное влияние всех уровней регуляции на ритм сердца, свидетельствовало об уменьшении адаптационных возможностей ССС и стрессоустойчивости организма в целом. Снижение показателя LF под воздействием 0,6 мг/л О₃, 2 мг/л О₃ и 8 мг/л О₃ указывало на уменьшение активности симпатических центров продолговатого мозга (кардиостимулирующего и вазоконстрикторного). Понижение мощности волн высокой частоты в диапазоне 0,9–3,5 Гц (HF) обусловлено снижением активности парасимпатического кардиоингибиторного центра продолговатого мозга (Машаех, 2003). Сниженные значения показателей LF и HF свидетельствовали о развившемся стрессе. Об уменьшении активности центральных эрготропных и гуморально-метаболических механизмов регуляции сердечного ритма под

влиянием 0,6мг/л O₃, 2мг/л O₃ и 8мг/л O₃ говорило снижение мощности волн очень низкой частоты в диапазоне 0,18–0,32 Гц (VLF). Повышение коэффициента вагосимпатического баланса (LF/HF) под воздействием 0,6мг/л O₃, 2мг/л O₃ и 8мг/л O₃ свидетельствовало об активации симпатической нервной системы.

В отличие от показателей крыс 2 контроля у животных 1 опытной группы озон в концентрации 0,6мг/л вызвал снижение TP на 32% ($p=0,021$), но повышение LF – в 2 раза ($p<0,001$), VLF – в 2 раза ($p<0,001$) и LF/HF – в 2,5 раза ($p<0,001$). В отличие от параметров крыс 2 контроля у животных 2 опытной группы озон в концентрации 2мг/л вызвал уменьшение TP на 30% ($p=0,018$) и рост LF – в 2 раза ($p=0,009$), LF/HF – в 2 раза ($p<0,001$). В отличие от параметров крыс 2 контроля у животных 3 опытной группы озон в концентрации 8мг/л вызвал снижение TP на 19% ($p=0,026$), но рост LF – в 2,3 раза ($p<0,001$), VLF – на 71% ($p=0,014$), LF/HF – в 2 раза ($p<0,001$) (табл. 5).

3.1.2. Изучение показателей про- и антиоксидантной системы на фоне продолжительного воздействия озона

Исследуемые показатели про- и антиоксидантной системы у крыс 1 контрольной группы в отличие от параметров интактных животных не имели статистически значимых различий.

Биохемилюминесцентный анализ также не выявил статистически значимых различий прооксидантного статуса (показатель S) в плазме крови крыс 2 контрольной группы с применением кислороднасыщенного физиологического раствора и 1 опытной группы, животные которой получали физиологический раствор с O₃ в концентрации 0,6 мг/л, в отличие от интактных крыс и крыс 1 контрольной группы (рис. 10).

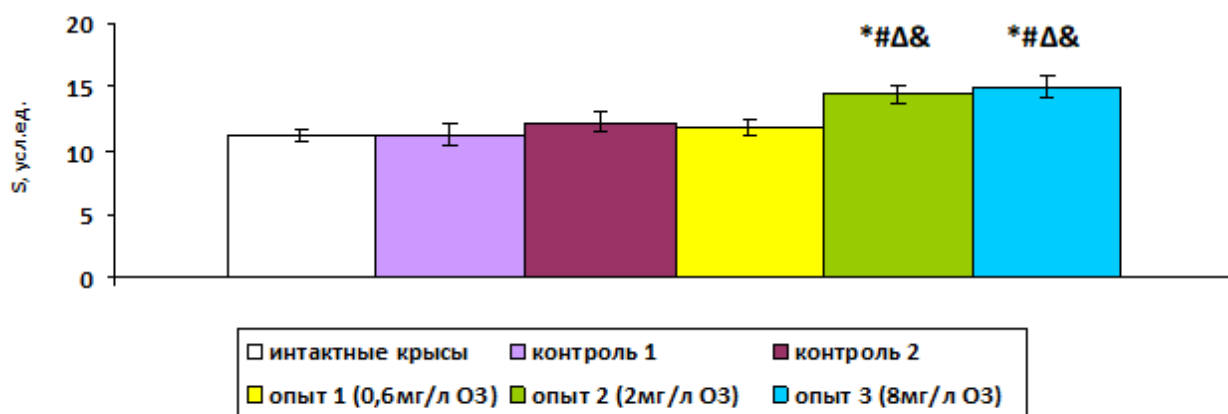


Рис. 10. Показатель S (усл.ед) в плазме крови в условиях хронического системного воздействия озонированного физиологического раствора

Примечание: # - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p < 0,05$); * - различия статистически значимы по сравнению с контролем 1 ($p < 0,05$); Δ - различия статистически значимы по сравнению с контролем 2 ($p < 0,05$); & - различия статистически значимы по сравнению с опытом 1 ($p < 0,05$).

Длительное применение озона в высоких концентрациях (2 мг/л и 8 мг/л) во 2 и 3 опытных группах сопровождалось активацией СРО в плазме крови на 28% ($p = 0,034$) и 33% ($p = 0,027$) соответственно по сравнению с показателем контроля 1 и на 18% ($p = 0,039$) и 23% ($p = 0,041$) соответственно по сравнению с показателем контроля 2 (рис. 10).

Отмечено снижение светосуммы хемилюминисценции (показатель S) в эритроцитах у животных 2 контрольной группы, 1, 2 и 3 опытных групп на 31% ($p = 0,032$), 58% ($p = 0,018$), 49% ($p = 0,025$) и 46% ($p = 0,039$) соответственно в отличие от параметров контроля 1 (рис. 11), подтверждая рост резистентности мембран к воздействию H_2O_2 (Оксидативный стресс и воспаление..., 2012). Однако статистически значимое уменьшение показателя S эритроцитов в отличие от здоровых крыс может вызвать развитие изменений в биологических мембранах: нарушение их проницаемости и ионного транспорта через мембрану, изменение физико-химических свойств белков и липидов мембран, ингибирование/активирование мембранно-связанных ферментов, снижение электрической стабильности липидного бислоя мембран (Стряпко, 2015; Перетягин, Соловьева, 2016). При этом СРО

в эритроцитах крыс 1, 2 и 3 опытных групп было снижено на 39% ($p=0,028$), 26% ($p=0,041$), 21% ($p=0,040$) соответственно по сравнению с показателем контроля 2.

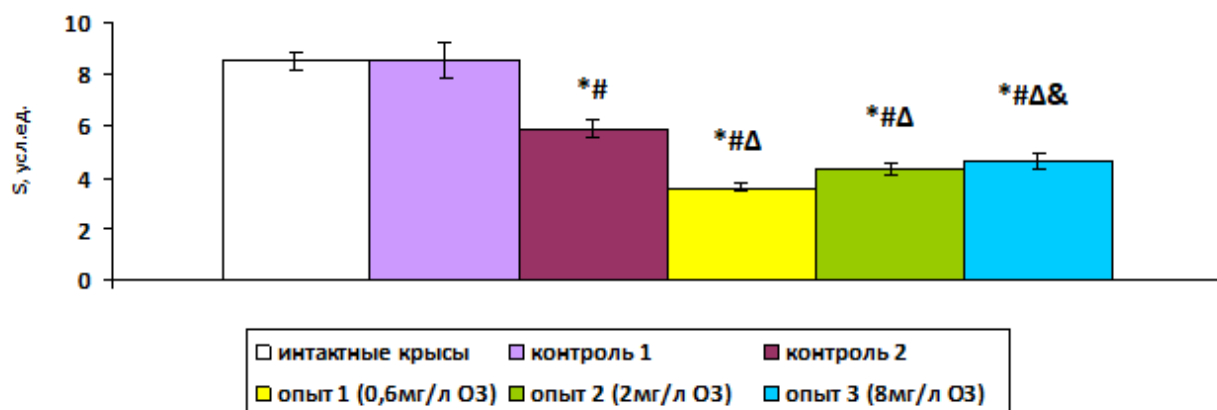


Рис. 11. Показатель S (усл.ед.) в эритроцитах крови в условиях хронического системного воздействия озонированного физиологического раствора

Примечание: # - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p<0,05$); * - различия статистически значимы по сравнению с контролем 1 ($p<0,05$); Δ - различия статистически значимы по сравнению с контролем 2 ($p<0,05$); & - различия статистически значимы по сравнению с опытом 1 ($p<0,05$).

Для оценки интенсивности процессов СРО в крови исследовали уровень вторичного продукта липопероксидации МДА, поскольку в процессе ПОЛ образуются альдегиды, кетоны, кислоты, являющиеся токсичными метаболитами для организма. Продукты ПОЛ карбонильной природы ингибируют некоторые ферменты и синтез ДНК, способствуют образованию внутри- и межмолекулярных сшивок полипептидов, влияют на агрегацию тромбоцитов (Меньщикова и др., 2006; Перетягин, Соловьева, 2016). Полученные результаты выявили рост концентрации МДА в плазме у крыс 2 контрольной, 2 и 3 опытных групп на 49% ($p=0,015$), 46% ($p=0,023$) и 82% ($p=0,009$) соответственно по сравнению с показателями контроля 1 (рис. 12).

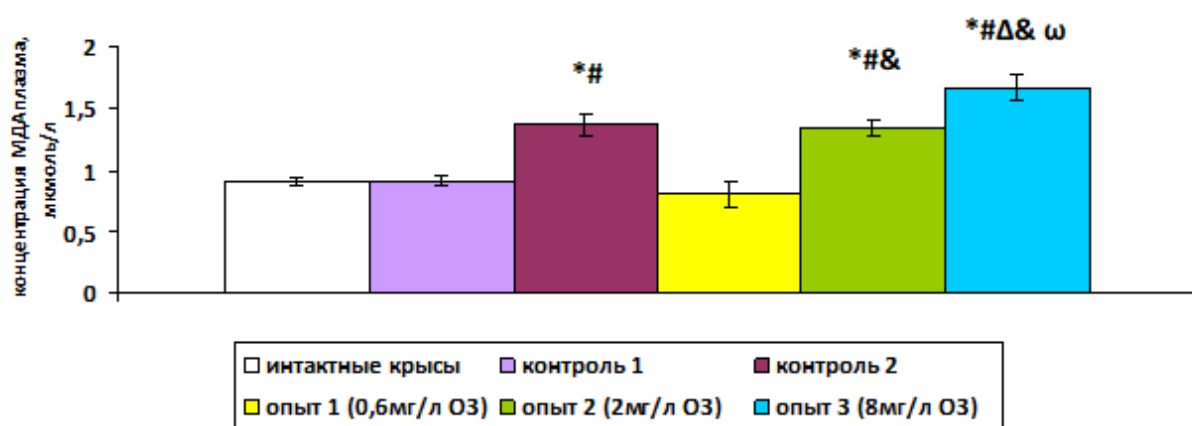


Рис. 12. Концентрация малонового диальдегида (мкмоль/л) в плазме крови в условиях хронического системного воздействия озонированного физиологического раствора

Примечание: # - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p < 0,05$); * - различия статистически значимы по сравнению с контролем 1 ($p < 0,05$); Δ - различия статистически значимы по сравнению с контролем 2 ($p < 0,05$); & - различия статистически значимы по сравнению с опытом 1 ($p < 0,05$); ω - различия статистически значимы по сравнению с опытом 2 ($p < 0,05$).

У крыс 2-ой контрольной группы, которым в течение 30 суток вводили внутрибрюшинно растворённый в физиологическом растворе кислород, и животных 1 опытной группы концентрация МДА в эритроцитах была снижена на 19% ($p = 0,035$) и 17% ($p = 0,028$) соответственно по сравнению с показателем контроля 1 (рис. 13). Концентрация МДА в эритроцитах крыс 2 и 3 опытных групп была в пределах значения интактных животных.

Озон может модифицировать окислительные молекулярные мишени, встроенные в фосфолипиды, которые, в свою очередь, являются компонентами циркулирующих липобелков и клеточных мембран. В таких супермолекулярных комплексах полиненасыщенные жирные кислоты создают уникальную матрицу, физико-химическая целостность которой помогает обеспечить функции встроенных белков. Следовательно, любые окислительные изменения таких полиненасыщенных жирных кислот вызовут нарушения липопротеинов и клеточных мембран. В свою очередь фосфолипиды мембран, окисленные озоном, представляют собой сильные триггеры воспаления. O_3 может окислять циркулирующие в организме

микровезикулы - переносчики биологически активных молекул, включая нуклеотиды и нуклеиновые кислоты (Amorim et al., 2013; Sa, Goncalves, 2016; Salem et al., 2016; Simonetti et al., 2019; Travagli, Iorio, 2023).

Кроме того, озон, оказывая влияние на двойную углерод–углеродную связь ненасыщенной жирной кислоты, вызывает ее цис–транс-изомерное превращение, которое может вызвать увеличение толщины и снижение текучести липидного бислоя мембран из-за конформационного изменения в кислоте, структурно сходной с насыщенной жирной кислотой, вызывая адаптацию к воздействию O_3 . Изомерное превращение может вызывать пероксильный радикал, являющийся побочным продуктом озонирования (Алясова и др., 2013; Wright et al., 2018; Travagli, Iorio, 2023).

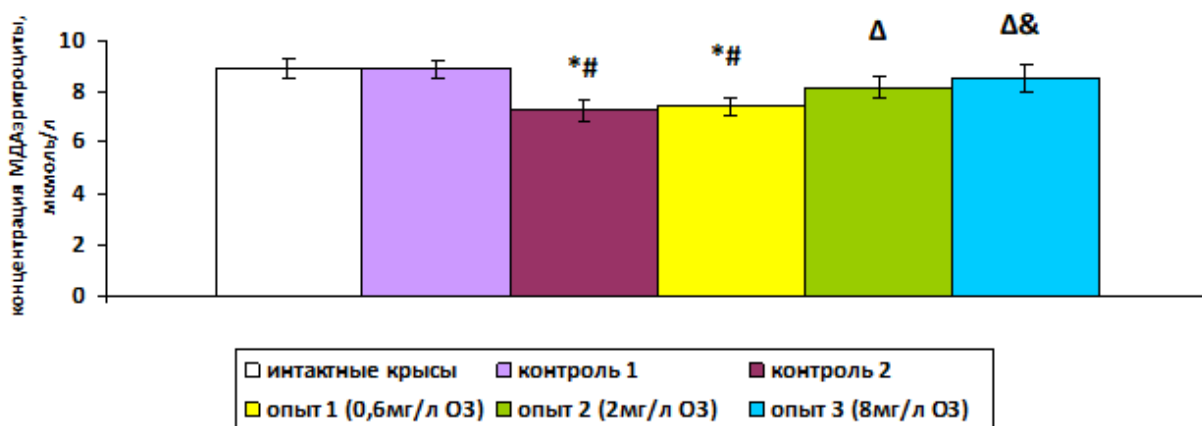


Рис. 13. Концентрация малонового диальдегида (мкмоль/л) в эритроцитах крови в условиях хронического системного воздействия озонированного физиологического раствора

Примечание: # - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p < 0,05$); * - различия статистически значимы по сравнению с контролем 1 ($p < 0,05$); Δ - различия статистически значимы по сравнению с контролем 2 ($p < 0,05$); & - различия статистически значимы по сравнению с опытом 1 ($p < 0,05$).

По данным биохемилюминесценции показатель $tg2\alpha$ в плазме активировался у крыс 1 опытной группы на 23% ($p = 0,011$), но уменьшился у животных 2 и 3 опытных групп на 14% ($p = 0,037$) и 11% ($p = 0,062$) соответственно в отличие от контроля 1 (рис. 14). При хроническом воздействии O_2 не выявлено статистически значимых различий в общей антиоксидантной активности в отличие от параметра животных 1

контрольной группы (рис. 14).

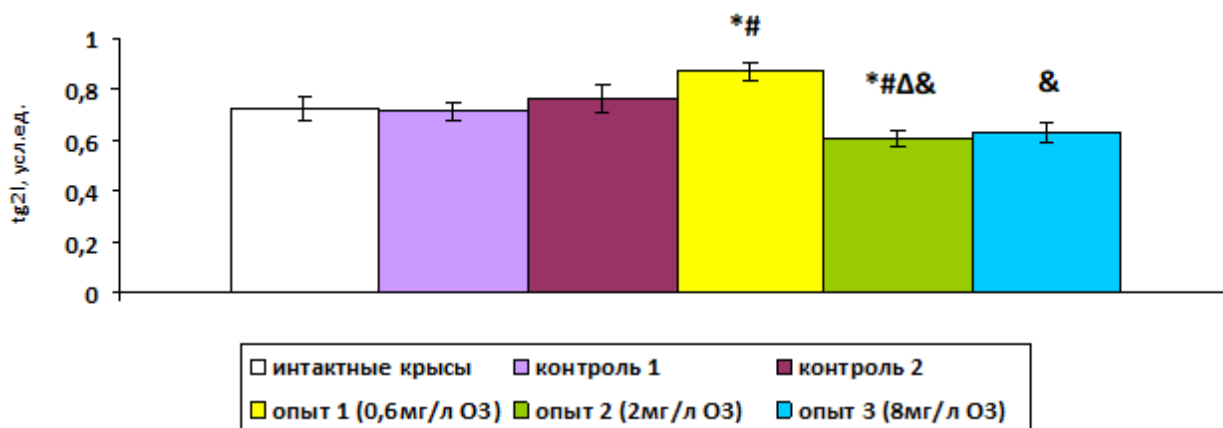


Рис. 14. Показатель tg2 α (усл.ед.) в плазме крови в условиях хронического системного воздействия озонированного физиологического раствора

Примечание: # - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p < 0,05$); * - различия статистически значимы по сравнению с контролем 1 ($p < 0,05$); Δ - различия статистически значимы по сравнению с контролем 2 ($p < 0,05$); & - различия статистически значимы по сравнению с опытом 1 ($p < 0,05$).

Так как супероксид является одним из основных прооксидантов в клетке, СОД играет ключевую роль в антиоксидантной защите организма. Показано отсутствие статистически значимых изменений удельной активности СОД у животных 2 контрольной и 3 опытной групп по сравнению с показателем крыс контроля 1. Выявлена активация СОД у крыс 1 и 2 опытных групп на 17% ($p = 0,032$) и 16% ($p = 0,044$) соответственно по сравнению с контролем 1 (рис. 15).

У животных 2 контрольной группы отсутствовали статистически значимые отличия удельной активности каталазы по сравнению с показателем крыс контроля 1. При этом активность каталазы возросла у крыс 1 и 2 опытных групп на 40% ($p = 0,013$) и 18% ($p = 0,033$) соответственно по сравнению с контролем 1. Длительное применение О₃ в концентрации 8 мг/л ингибировало удельную активность каталазы на 19% ($p = 0,031$) по сравнению с контролем 1 (рис. 16).

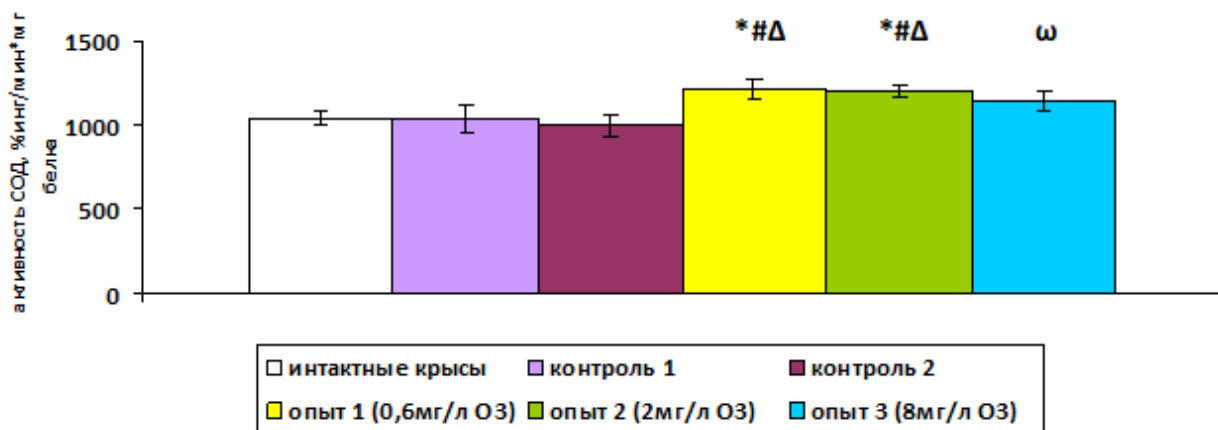


Рис. 15. Активность супероксиддисмутазы (%инг./мин×мг белка) в эритроцитах крови в условиях хронического системного воздействия озонированного физиологического раствора

Примечание: # - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p < 0,05$); * - различия статистически значимы по сравнению с контролем 1 ($p < 0,05$); Δ - различия статистически значимы по сравнению с контролем 2 ($p < 0,05$); ω - различия статистически значимы по сравнению с опытом 2 ($p < 0,05$).

Таким образом, изменения показателей СРО и антиоксидантной защиты организма в условиях хронического влияния кислороднасыщенного физиологического раствора говорили о снижении окислительного потенциала на системном уровне (кровь) и могли быть одной из причин ослабления сопротивляемости организма, уменьшения его иммунореактивности (Соловьева, Мартусевич, 2014; Перетягин, Соловьева, 2016; Бояринов и др., 2018; Tарпу, Celli, 1995).

Воздействие на животных в течение 30 суток низкой концентрации (0,6 мг/л) озона, являющегося АФК с высоким по сравнению с кислородом окислительно-восстановительным потенциалом, имело нормализующий прооксидантный потенциал на плазму крови (показатель S, концентрация МДА), снижало СРО эритроцитов, повышая их перекисную резистентность, увеличило активность антиоксидантных резервов организма (рост ОАА в плазме, удельной активности СОД и каталазы в эритроцитах). Совместный рост антиоксидантных свойств плазмы и эритроцитов под влиянием 0,6мг/ О₃ являлся барьером в развитии оксидативного стресса, что подтверждалось

снижением МДА в эритроцитах. В основе механизма действия O_3 лежит его способность активировать синтез и каталитические свойства ферментов антирадикальной защиты: глутатионпероксидазы, каталазы и супероксиддисмутазы (Перетягин, 2003; Перетягин, Соловьева, 2016; Elvis, Ekta, 2011; Wang et al., 2014).

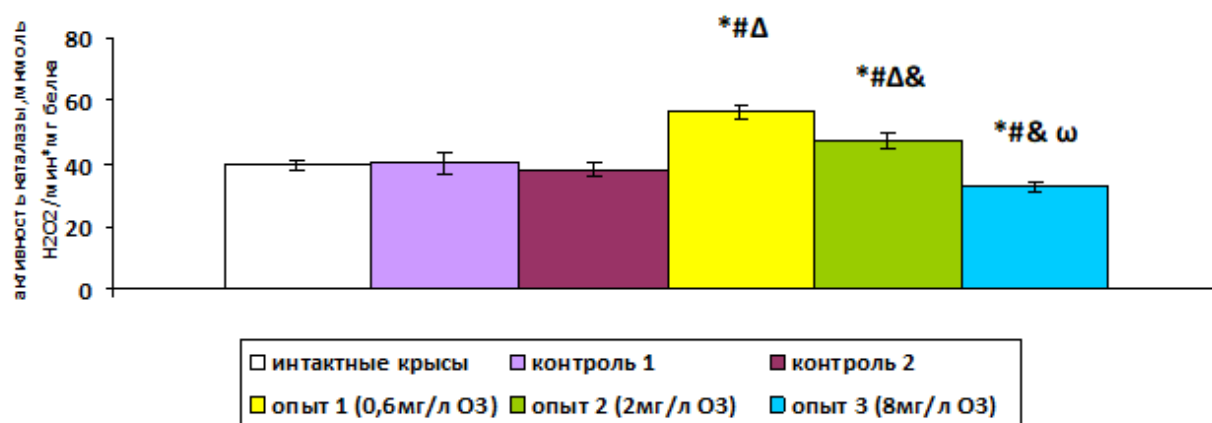


Рис. 16. Активность каталазы (мкмоль H_2O_2 / мин × мг белка) в эритроцитах крови в условиях хронического системного воздействия озонированного физиологического раствора

Примечание: # - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p < 0,05$); * - различия статистически значимы по сравнению с контролем 1 ($p < 0,05$); Δ - различия статистически значимы по сравнению с контролем 2 ($p < 0,05$); & - различия статистически значимы по сравнению с опытом 1 ($p < 0,05$); ω - различия статистически значимы по сравнению с опытом 2 ($p < 0,05$).

30-дневное влияние O_3 в концентрации 2мкг/л и 8мг/л сопровождалось активацией прооксидантной способности плазмы крови (показатель S, концентрация МДА), наиболее выраженное при использовании 8мг/л O_3 . Максимальная концентрация O_3 (8мг/л) при длительном его применении способствовала развитию окислительного стресса, так как вызвала снижение ОАА и удельной активности каталазы. Такой эффект хронического воздействия больших концентраций озона можно связать с токсикогенными свойствами активных форм кислорода (кислородное отравление), образующимися при взаимодействии озона с органическими субстратами, способными оказывать тормозящее действие на отдельные этапы

окислительного метаболизма и в целом на защитные системы организма (Zhou et al., 2008). Применение 2мг/л O_3 на фоне снижения ОАА привело к компенсаторному росту удельной активности СОД и каталазы, что создавало условия для обрыва цепей процесса СРО.

Таким образом, 30-дневное воздействие кислороднасыщенного физиологического раствора ингибировало про- и антиоксидантное состояние эритроцитов крови. Аналогичное уменьшение активности окислительных процессов под действием кислорода наблюдалось в условиях экспериментальной гипероксии при вдыхании кислорода под повышенным давлением и указывало на токсические свойства O_2 (Леонов, 1993). Начальные механизмы действия гипербарического O_2 на клетку и организм реализуются через прямое (посредством включения кислорода в электрон-транспортные сети митохондрий), опосредованное (через свободнорадикальные механизмы и сопряженные метаболические пути) и рефлекторное (через рецепторы) влияние (Леонов, 1993; Стряпко, 2015). 30-дневное воздействие высоких концентраций озона (2мг/л и 8мг/л) у крыс (Перетягин, Соловьева, 2016), снижая общую антиоксидантную активность, оказало стимулирующее действие на энзиматическую антиоксидантную активность при концентрации 2мг/л, нивелируя рост прооксидантного потенциала. При 30-дневном экспериментальном воздействии активными формами кислорода наиболее оптимальным оказалось применение низких концентраций (0,6 мг/л) озона, растворенного в физиологическом растворе, которые, поддерживая прооксидантный статус в условиях физиологической нормы, активировали как ферментативное звено антиоксидантной защиты, так, и в целом, общую антиоксидантную активность крови в отличие от интактных животных. Описывая каталитические свойства СОД и концентрацию МДА под воздействием O_3 , получены аналогичные результаты, указывающие на дозозависимый характер ответных реакций организма в ответ на действие низких и высоких доз озона на биологические системы (Перетягин, Соловьева, 2016; Zhou et al., 2008; Smith et al., 2017).

В результате полученные данные констатируют тот факт, что хроническое применение кислороднасыщенного раствора на протяжении 30 суток угнетает про- и антиоксидантный баланс в эритроцитах крови. Показано, что длительное использование высоких концентраций (2мг/л и 8мг/л) озона активирует СРО в плазме, ингибирует общую антиоксидантную активность крови, при этом увеличивая активность СОД и каталазы под влиянием 2мг/л O_3 и подавляя удельную активность каталазы под воздействием 8мг/л O_3 . Установлено, что менее выраженным токсическим эффектом обладает озон в концентрации 0,6 мг/л (Перетягин, Соловьева, 2016).

Теория окислительного стресса может дать ключ к пониманию действия озона. Так, в терапевтических дозах озон активирует сигнальный путь окислительного стресса Nrf2/ARE. С другой стороны, неконтролируемое воздействие озона вызывает дисфункцию окислительно-восстановительной системы, а не изменение баланса окислителей/антиоксидантов, что приводит к окислительному дистрессу (Halliwell, Gutteridge, 2015; Nitti et al., 2022; Travagli, Iorio, 2023). Окислительный стресс является реактивным явлением, имеющим адаптивные цели, включая ограниченную по времени реакцию, направленную на нейтрализацию стрессора. При этом реакции окислительно-восстановительной системы характеризуются своевременностью (окислительно-активные вещества образуются за доли тысячной доли секунды), простотой молекулярных механизмов (простой обмен электронами, который начинается с добавления электрона к молекуле кислорода), способностью развиваться при незначительных затратах энергии и простотой механизмов регулирования. Следует подчеркнуть, что воздействие озоном способно благоприятно модулировать ключевые сигнальные пути, участвующие в контроле окислительных процессов (например, активация экспрессии фактора транскрипции Nrf2) (Halliwell, Gutteridge, 2015; Somay et al., 2017; Nitti et al., 2022; Travagli, Iorio, 2023).

Потенциальными молекулярными мишенями для озона являются: 1)

альбумин, мочевиная кислота, билирубин, убихинол, липоевая кислота, токоферолы, каротиноиды, полифенолы (Проскурина, 2018); 2) карнозин (β -аланил-L-гистидин), обладающий рН-буферизацией, хелатированием ионов металлов и антиоксидантной способностью, а также способностью защищать от образования повышенных конечных продуктов гликирования и липопероксидации; 3) некоторые полиамины (Bocsi, 2010; Tricarico, Travagli, 2021; Travagli, Iorio, 2023). Среди внутриклеточных потенциальных мишеней озона являются антиоксидантные ферменты и антиоксиданты (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза и глутатион внутри эритроцитов), которые могут выступать маркерами воздействия озона (Travagli, Iorio, 2023).

3.1.3. Активность альдегиддегидрогеназы и лактатдегидрогеназы крови крыс при длительном применении озона

Исследование активности одного из ферментов биотрансформации, АлДГ, участвующего, в частности, в утилизации МДА (Korpeka et al., 2012), в условиях длительного применения АФК показало отсутствие статистически значимых изменений показателя под влиянием 0,9% раствора NaCl, насыщенного кислородом по сравнению с параметром интактных крыс (рис. 17). В 1 опытной группе отмечен рост удельной активности АлДГ в отличие от интактных крыс (на 30% ($p=0,027$)) и животных контроля 1 (на 36% ($p=0,031$)). Высокие концентрации ОЗ вызвали ингибирование активности АлДГ. По сравнению с активностью АлДГ интактных крыс в опыте 2 активность АлДГ уменьшилась на 53% ($p=0,012$), в опыте 3 – на 48% ($p=0,024$) (рис. 17).

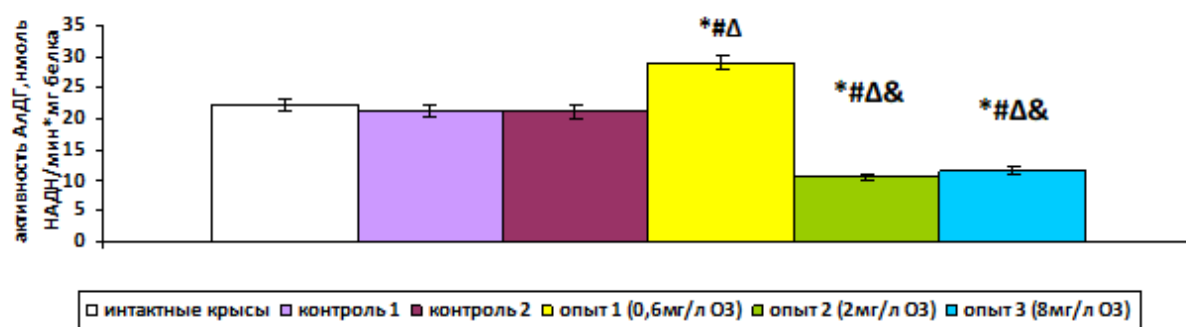


Рис. 17. Активность альдегиддегидрогеназы (нмоль НАДН/мин×мг белка) в эритроцитах крови в условиях хронического системного воздействия озонированного физиологического раствора

Примечание: # - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p < 0,05$); * - различия статистически значимы по сравнению с контролем 1 ($p < 0,05$); Δ - различия статистически значимы по сравнению с контролем 2 ($p < 0,05$); & - различия статистически значимы по сравнению с опытом 1 ($p < 0,05$).

Показан рост каталитических свойств фермента энергетического метаболизма – ЛДГ, при длительном применении кислороднасыщенного физиологического раствора. Во 2-ой контрольной группе было установлено повышение на 51% ($p < 0,05$) удельной активности ЛДГ в прямой (рис. 18) и обратной реакции на 60% ($p < 0,05$) (рис. 19) в отличие от контроля 1 (Соловьева, Перетягин, Перетягин, 2021).

При этом расчет интегрального показателя – КБЭР, характеризующего динамику метаболизма, показал его снижение в эритроцитах крови крыс 2-ой контрольной группы на 12% ($p < 0,05$) в отличие от КБЭР животных 1-ой контрольной группы (табл. 6). Следовательно, можно говорить о нарушении энергетического метаболизма, приводящего к росту концентрации молочной кислоты, формирующейся в ходе обратной реакции ЛДГ (М-форма ЛДГ) (Соловьева и др., 2015; Martusevich et al., 2015).

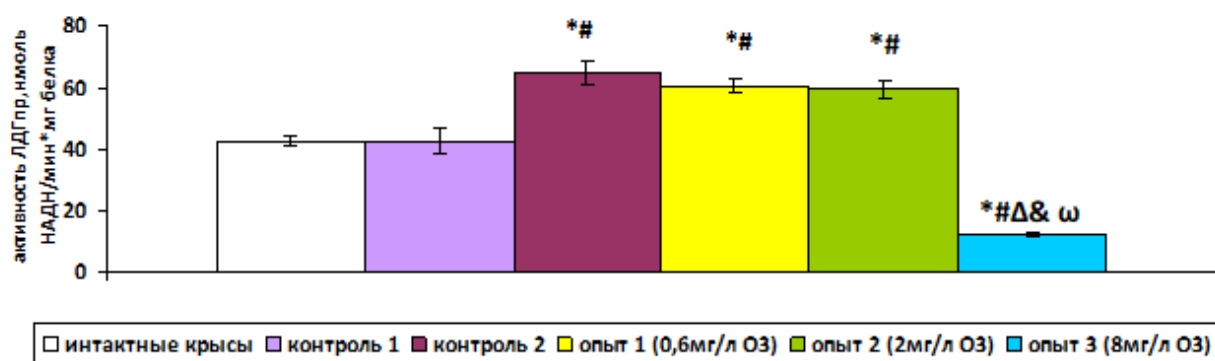


Рис. 18. Активность лактатдегидрогеназы в прямой реакции (нмоль НАДН/мин×мг белка) в эритроцитах крови в условиях хронического системного воздействия озонированного физиологического раствора

Примечание: # - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p < 0,05$); * - различия статистически значимы по сравнению с контролем 1 ($p < 0,05$); Δ - различия статистически значимы по сравнению с контролем 2 ($p < 0,05$); & - различия статистически значимы по сравнению с опытом 1 ($p < 0,05$); ω - различия статистически значимы по сравнению с опытом 2 ($p < 0,05$).

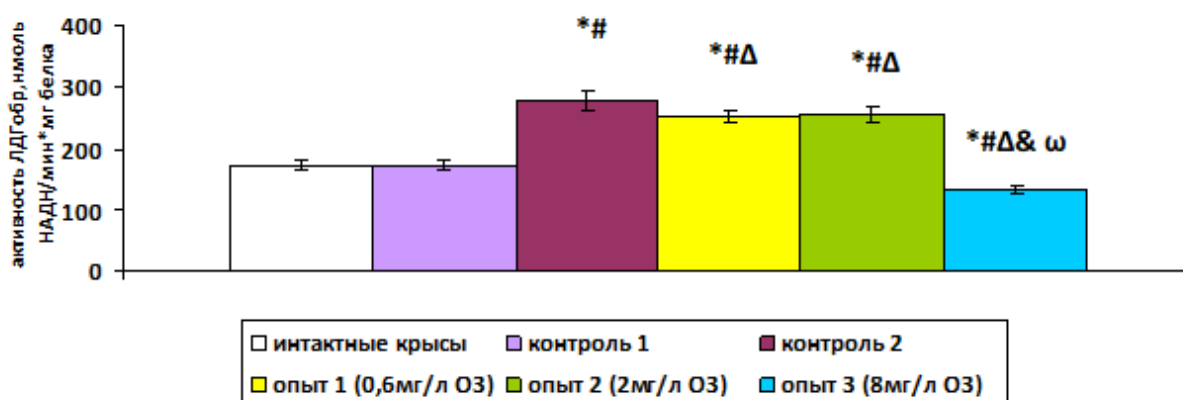


Рис. 19. Активность лактатдегидрогеназы в обратной реакции (нмоль НАДН/мин×мг белка) в эритроцитах крови в условиях хронического системного воздействия озонированного физиологического раствора

Примечание: # - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p < 0,05$); * - различия статистически значимы по сравнению с контролем 1 ($p < 0,05$); Δ - различия статистически значимы по сравнению с контролем 2 ($p < 0,05$); & - различия статистически значимы по сравнению с опытом 1 ($p < 0,05$); ω - различия статистически значимы по сравнению с опытом 2 ($p < 0,05$).

Под 30-дневным влиянием физиологического раствора с O₃ в концентрациях 0,6 мг/л и 2 мг/л отмечена стимуляция удельной активности

ЛДГ. Под влиянием 0,6 мг/л О₃ удельная активность ЛДГпр возросла на 41% ($p<0,05$) (рис. 18), активность ЛДГобр увеличилась на 46% ($p<0,01$) (рис. 19) по сравнению с показателями крыс 1 контрольной группы. Применение 2 мг/л О₃ вызвало рост удельной активности ЛДГпр и ЛДГобр на 39% ($p>0,05$) (рис. 18) и 47% ($p<0,05$) (рис. 19) в отличие от контроля 1. КБЭР у животных в опыте 2 был ниже на 11% ($p<0,05$) по сравнению с показателем крыс в контроле 1.

Таблица 6

**Коэффициент баланса энергетических реакций
в крови крыс в условиях хронического системного воздействия
озонированного физиологического раствора**

Условия эксперимента	КБЭР
Интактные крысы	6,04±0,25
Контроль 1	6,04±0,18
Контроль 2	5,36±0,11*#
Опыт 1 (0,6 мг/л О ₃)	5,69±0,09Δ
Опыт 2 (2 мг/л О ₃)	5,39±0,23*#
Опыт 3 (8 мг/л О ₃)	0,86±0,03*#Δ&ω

Примечание: # - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p<0,05$); * - различия статистически значимы по сравнению с контролем 1 ($p<0,05$); Δ - различия статистически значимы по сравнению с контролем 2 ($p<0,05$); & - различия статистически значимы по сравнению с опытом 1 ($p<0,05$); ω - различия статистически значимы по сравнению с опытом 2 ($p<0,05$).

Системное применение АФК в виде растворенного в физиологическом растворе озона в концентрации 8,0 мг/л ингибировало активность ЛДГ. Под влиянием 8 мг/л О₃ активность ЛДГпр снизилась в 3,5 раза ($p<0,05$) по сравнению с показателем контроля 1, в 5 раз ($p<0,05$) – по сравнению с показателем крыс 1 опытной группы (0,6 мг/л О₃), в 5 раз ($p<0,05$) – по сравнению с показателем крыс 2 опытной группы (2 мг/л О₃) и в 5 раз ($p<0,05$) – по сравнению с воздействием кислороднасыщенного физиологического раствора. Активность ЛДГобр уменьшилась под влиянием 8 мг/л О₃ по сравнению с показателем контроля 1 на 25% ($p<0,05$), по сравнению с показателем крыс 1 опытной группы (0,6 мг/л О₃) – в 2 раза ($p<0,05$), по сравнению с показателем крыс 2 опытной группы (2 мг/л О₃) – в 2 раза

($p < 0,05$), по сравнению с воздействием кислороднасыщенного физиологического раствора – в 2 раза ($p < 0,05$). Выраженное снижение КБЭР в эритроцитах крови под влиянием 8 мг/л O_3 (в 7 раз ($p < 0,05$) по сравнению с показателем контроля 1, в 6,6 раза ($p < 0,05$) – по сравнению с показателем крыс 1 опытной группы (0,6 мг/л O_3), в 6 раз ($p < 0,05$) – по сравнению с показателем крыс 2 опытной группы (2 мг/л O_3) и в 6 раз ($p < 0,05$) – по сравнению с воздействием кислороднасыщенного физиологического раствора) (табл. 6) свидетельствовало о сильном нарушении энергетического метаболизма, приводящем к росту лактата.

Таким образом, 30-дневное воздействие АФК виде озонированного физиологического раствора оказало дозозависимое ингибирующее (8 мг/л O_3) или активирующее воздействие (0,6 мг/л O_3 и 2 мг/л O_3) на энергетические резервы организма и концентрацию лактата. Показано, что озон в концентрации 0,6 мг/л не имел выраженного токсического эффекта.

Было показано, что длительное использование низких концентраций O_3 способствовало умеренной физиологической активации оксидоредуктаз, тогда как концентрации озона, превышающие 2 мг/л, приводили к нарастанию тканевой гипоксии и накоплению в печени токсических продуктов (Перетягин, Соловьева, 2016; Peretyagin et al., 2013).

3.1.4. Уровень глюкозы и лактата крови крыс на фоне продолжительного воздействия озона

Выявленное при длительном воздействии 0,6 мг/л O_3 снижение КБЭР сопровождалось накоплением лактата в эритроцитах (рис. 20) и плазме (рис. 21) крови на 32% ($p < 0,05$) и 15% ($p > 0,05$) в отличие от крыс контроля 1. Полученные результаты указывали на неэффективность аэробного окисления и рост в крови уровня глюкозы: в плазме – на 19% ($p > 0,05$) (рис. 22) и в эритроцитах – на 26% ($p > 0,05$) (рис. 23) через 30 суток после воздействия низких доз озона (Соловьева, Перетягин, Перетягин, 2021).

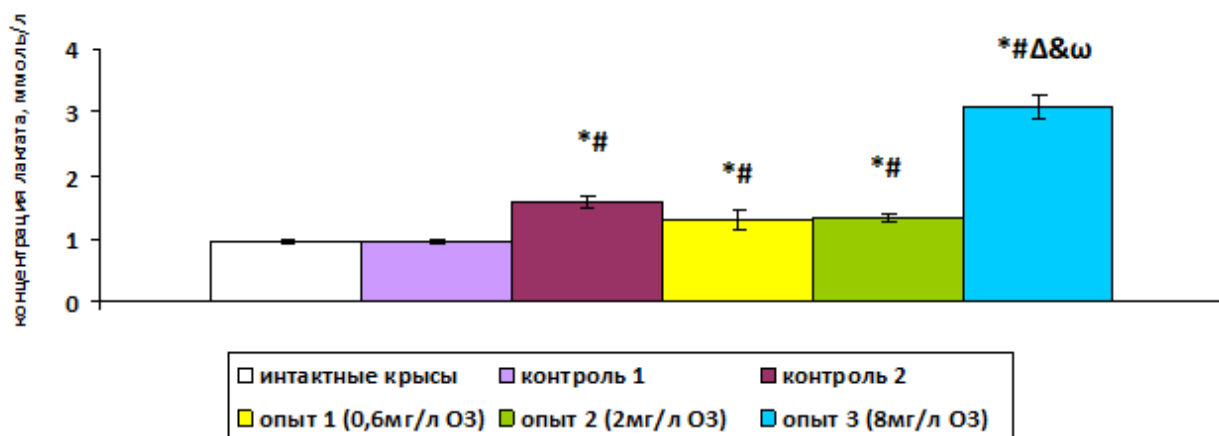


Рис. 20. Концентрация лактата (ммоль/л) в эритроцитах крови в условиях хронического системного воздействия озонированного физиологического раствора

Примечание: # - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p < 0,05$); * - различия статистически значимы по сравнению с контролем 1 ($p < 0,05$); Δ - различия статистически значимы по сравнению с контролем 2 ($p < 0,05$); & - различия статистически значимы по сравнению с опытом 1 ($p < 0,05$); ω - различия статистически значимы по сравнению с опытом 2 ($p < 0,05$).

Уменьшение КБЭР под влиянием 2,0 мг/л O₃ указывало на повышение концентрации лактата в плазме на 18% ($p < 0,05$) (рис. 21) и эритроцитах на 35% ($p < 0,01$) (рис. 20) в отличие от значений КБЭР животных, получавших физиологический раствор (контроль 1).

Использование раствора NaCl с концентрацией O₃ в нем 8,0 мг/л вызвало рост уровня лактата в плазме на 27% ($p < 0,05$) и эритроцитах – в 3 раза ($p < 0,05$) по сравнению с показателями животных контроля 1, что обусловлено выраженным снижением КБЭР под влиянием 8 мг/л O₃.

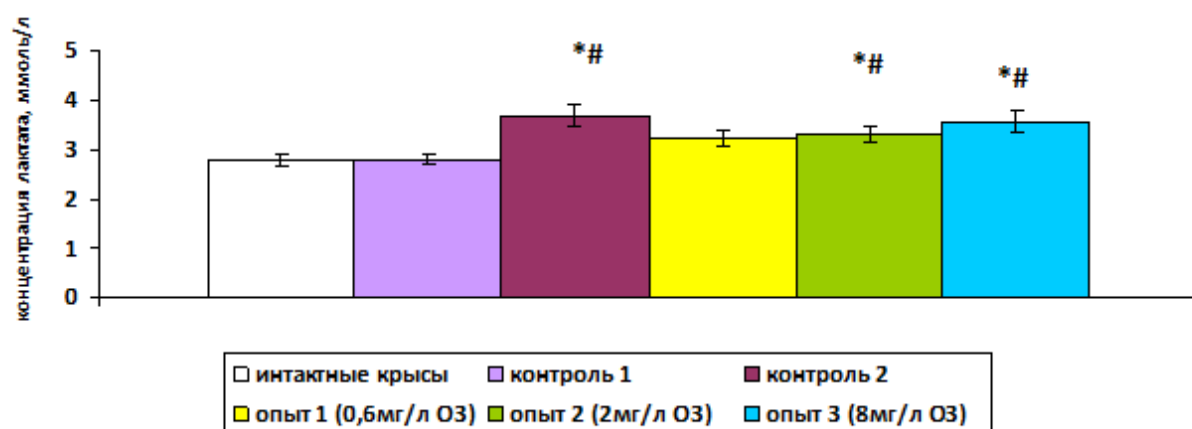


Рис. 21. Концентрация лактата (ммоль/л) в плазме крови в условиях хронического системного воздействия озонированного физиологического раствора

Примечание: # - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p < 0,05$); * - различия статистически значимы по сравнению с контролем 1 ($p < 0,05$).

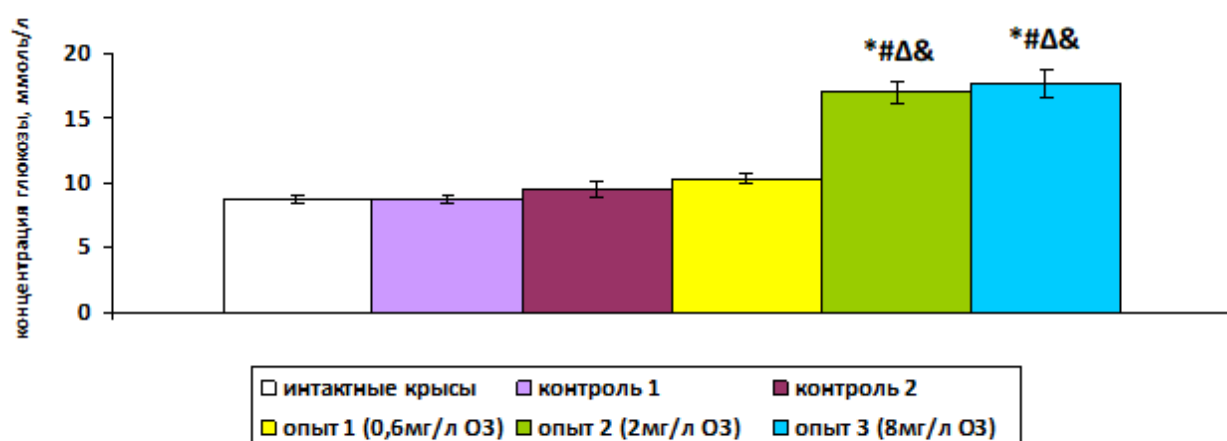


Рис. 22. Концентрация глюкозы (ммоль/л) в плазме крови в условиях хронического системного воздействия озонированного физиологического раствора

Примечание: # - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p < 0,05$); * - различия статистически значимы по сравнению с контролем 1 ($p < 0,05$); Δ - различия статистически значимы по сравнению с контролем 2 ($p < 0,05$); & - различия статистически значимы по сравнению с опытом 1 ($p < 0,05$).

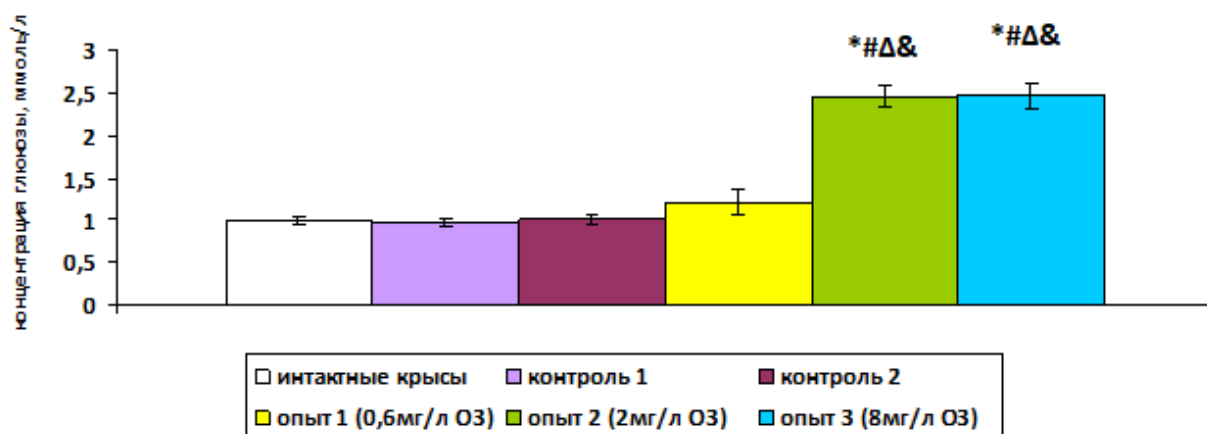


Рис. 23. Концентрация глюкозы (ммоль/л) в эритроцитах крови в условиях хронического системного воздействия озонированного физиологического раствора

Примечание: # - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p < 0,05$); * - различия статистически значимы по сравнению с контролем 1 ($p < 0,05$); Δ - различия статистически значимы по сравнению с контролем 2 ($p < 0,05$); & - различия статистически значимы по сравнению с опытом 1 ($p < 0,05$).

Вявленные под влиянием высоких концентраций озона изменения активности ЛДГпр и ЛДГобр, а также концентрации субстрата и продукта реакции, катализируемой ЛДГ – молочной кислоты, связаны с образованием другого субстрата энергетического обмена веществ – глюкозы. При воздействии 2,0 мг/л O₃ уровень глюкозы увеличился в 2 раза ($p < 0,01$) в плазме (рис. 22) и в 2,6 раза ($p < 0,01$) эритроцитах (рис. 23); под влиянием 8,0 мг/л O₃ содержание глюкозы возросло в 2 раза ($p < 0,01$) в плазме и в 2,6 раза ($p < 0,01$) в эритроцитах в отличие от параметров животных контроля 1.

В контроле 2 концентрация молочной кислоты увеличилась в плазме на 31% ($p < 0,05$) (рис. 21) и в эритроцитах – на 63% ($p < 0,05$) (рис. 20), при этом отмечен рост содержания глюкозы в плазме на 9% ($p > 0,05$) и эритроцитах на 5% ($p > 0,05$) в отличие от животными 1 контрольной группы (рис. 22, 23) (Соловьева, Перетягин, Перетягин, 2021).

Таким образом, кислороднасыщенный раствор активировал каталитические свойства ЛДГпр и ЛДГобр на фоне снижения КБЭР, в результате статистически значимо возросла концентрация лактата в плазме и

эритроцитах крови крыс, а уровень глюкозы остался в пределах показателей, характерных для интактных животных с инфузиями физиологическим раствором без насыщения АФК. Выявлена активация ЛДГпр и ЛДГобр при 30-дневном применении O_3 в концентрациях 0,6 и 2,0 мг/л с последующим снижением КБЭР, значение которого статистически значимо изменилось под воздействием 2 мг/л O_3 . Озон в концентрации 8 мг/л ингибировал активность ЛДГпр и ЛДГобр с выраженным снижением КБЭР и, как следствие, максимальным накоплением таких энергетических субстратов, как глюкоза и лактат (Соловьева, Перетягин, Перетягин, 2021).

Следовательно, выявлено дозозависимое действие O_3 на клетки и ткани в условиях хронического системного воздействия физиологического раствора, обработанного озоном (табл. 7).

30-дневное использование физиологического раствора, обработанного озоном, вызвало нарушение баланса регуляторных факторов микроциркуляции. При воздействии 0,6мг/л O_3 это выразилось в ингибировании эндотелиального и нейрогенного факторов регуляции, снижении ПШ на фоне активации сердечного фактора регуляции, что свидетельствовало об отсутствии ишемии тканей. Длительное применение 2мг/л вызвало венозную гиперемия, характеризующуюся увеличением амплитуды дыхательного ритма. Под влиянием 2мг/л O_3 отмечено снижение активных факторов регуляции (эндотелиального и нейрогенного) на фоне активации пассивных факторов регуляции микроциркуляции (дыхательного и сердечного).

Под влиянием 8мг/л O_3 отмечалось ингибирование пассивных (дыхательного и сердечного) и активных (нейрогенного и миогенного) факторов регуляции. Активные факторы регуляции микрокровотока связаны с миогенным и нейрогенным тонусом. Первый обусловлен тонусом мышц прекапиллярных сфинктеров, которые регулируют поступление крови в капиллярное звено микроциркуляторного русла. А нейрогенный тонус определяется адренергическим влиянием симпатической нервной системы на

адренорецепторы артериол. При длительном применении 8мг/л O_3 гипоперфузия тканей (низкий показатель ПМ) и сброс крови по артериоло-венулярным анастомозам, вследствие шунтирования крови, свидетельствует об ишемии тканей. В результате ПШ (соотношение миогенного и нейрогенного тонуса), отражающий степень шунтирования кровотока и ишемию ткани, был повышен при воздействии 8мг/л O_3 .

При длительном применении 2мг/л и 8мг/л O_3 не выявлено статистически значимых отличий значения Моды от математического ожидания. Полученные данные указывали на нормальное распределение кардиоинтервалов, а также на высокую стационарность исследуемого процесса. Снижение моды (M_o) при длительном воздействии 0,6мг/л O_3 служило доказательством преобладающего воздействия симпатического отдела ВНС. Под воздействием 2мг/л и 8мг/л O_3 показатель амплитуды моды (AM_o) был повышен, что также указывало на сдвиг вегетативного баланса в сторону симпатического отдела ВНС. Изменение AM_o под влиянием 2мг/л и 8мг/л O_3 в целом отражало смещение регуляции сердечного ритма (Субботина и др., 2015). Кроме этого рост активности симпатического отдела ВНС также подтвердился увеличением значения индекса вегетативного равновесия (ИВР) при использовании 0,6мг/л, 2мг/л и 8мг/л O_3 .

Индекс напряжения при длительном применении всех исследуемых концентраций озона (0,6мг/л, 2мг/л и 8мг/л O_3) был увеличен. Это свидетельствовало об активации механизмов симпатической регуляции и преобладании центрального контура регуляции над автономным, а также о напряжении регуляторных систем в целом (Субботина и др., 2015).

При использовании всех исследуемых концентраций озона (0,6мг/л, 2мг/л и 8мг/л O_3) выявленный рост вегетативного показателя ритма (ВПР) свидетельствовал о снижении активности парасимпатического отдела ВНС.

Под влиянием всех исследуемых концентраций озона (0,6мг/л, 2мг/л и 8мг/л O_3) при длительном их применении показатель адекватности процессов регуляции (ПАПР) возрос на 43% ($p=0,021$), 64% ($p=0,007$) и 33% ($p=0,019$)

соответственно в отличие от интактных крыс, указывая на активацию симпатического отдела вегетативной нервной системы и снижение работы синусового узла. Показатель ПАПР был статистически значимо увеличен и при использовании кислороднасыщенного физиологического раствора (контроль 2), также подтверждая активацию симпатического звена ВНС.

Таблица 7

Дозозависимое действие O_3 на клетки и ткани в условиях хронического системного воздействия озонированного физиологического раствора

Концентрация O_3	Активация	Ингибирование
0,6 мг/л	- ↑ активности СОД, каталазы, АлДГ, ОАА - лактатацидоз (↑ молочной кислоты в эритроцитах) - ↑ перекисной резистентности мембран эритроцитов (↓ Sэр, ↓ МДАэр) - ↑ С - ↑ ЧСС, ИН, ИВР, ВПР, ПАПР, LF/HF	- ↓ Э - ↓ Н - ↓ ПШ - ↓ Мода - ↓ Вариационный размах - ↓ RMSSD, SDNN, CV, pNN5 - ↓ TP, LF, HF, VLF
2 мг/л	- лактатацидоз (↑ молочной кислоты в плазме и эритроцитах) - гиперкликемия (↑ глюкозы в плазме и эритроцитах) - ↑ Спл, МДАпл - ↑ активности СОД, каталазы - ↑ Д, С - ↑ ЧСС, АМо, ИН, ИВР, ВПР, ПАПР; ↑ LF/HF	- дезэнергизация клетки (↓ КБЭР) - ↓ ОАА - ↓ Sэр - ↓ детоксикационной функции (↓ АлДГ) - ↓ ПШ - ↓ Э, Н - ↓ Вариационный размах - ↓ RMSSD, SDNN, CV, pNN5 - ↓ TP, LF, HF, VLF
8 мг/л	- лактатацидоз (↑ молочной кислоты в плазме и эритроцитах) - гиперкликемия (↑ глюкозы в плазме и эритроцитах) - ↑ Спл, МДАпл - ↑ Э - ↑ ПШ - ↑ ЧСС, АМо, ИН, ИВР, ВПР, ПАПР - ↑ LF/HF	- дезэнергизация клетки (↓ КБЭР) - ↓ ОАА, активности каталазы - ↓ Sэр - ↓ детоксикационной функции (↓ АлДГ) - ↓ ПМ - ↓ Н, М, Д, С - ↓ Вариационный размах - ↓ RMSSD, SDNN, CV, pNN5 - ↓ TP, LF, HF, VLF

При хроническом длительном воздействии озона во всех исследуемых концентрациях (0,6мг/л, 2мг/л и 8мг/л O_3) снизилось влияние парасимпатического отдела ВНС, на что указывало снижение показателя

вариационного размаха.

Под 30-дневным влиянием озона во всех исследуемых концентрациях (0,6мг/л, 2мг/л и 8мг/л O_3) выявлена активация центрального контура регуляции надсегментарного уровня, о чем свидетельствовал рост индекса напряжения, способствуя мобилизации дополнительных функциональных резервов организма.

Таким образом, в условиях хронического эксперимента под влиянием озона во всех исследуемых концентрациях (0,6мг/л, 2мг/л и 8мг/л O_3) при раскрытии механизмов регуляторных воздействий озона на синусовый узел показаны выраженные сдвиги вегетативного гомеостаза в сторону преобладания симпатического отдела ВНС.

В опытных группах конечный эффект регуляторных воздействий на синусовый узел характеризовался своими особенностями: при воздействии 0,6мг/л O_3 он проявлялся выраженной тахикардией, под влиянием 2мг/л O_3 и 8мг/л O_3 отмечалась умеренная тахикардия.

Увеличение ЧСС, ИН, уменьшение моды, наблюдаемое при применении 0,6мг/л O_3 доказывало факт усиления влияния симпатического отдела ВНС, увеличения активности центрального контура регуляции (надсегментарного уровня), роста напряжения регуляторных механизмов для обеспечения мобилизации функциональных резервов организма, следовательно, длительное использование 0,6мг/л O_3 вызывает активацию регуляторных систем организма.

Таким образом, при хроническом воздействии всех исследуемых концентраций озона (0,6мг/л, 2мг/л и 8мг/л O_3) вегетативный баланс смещен в сторону симпатического отдела, что было подтверждено ростом таких показателей как ЧСС, ИВР, ИН, ПАПР; наибольшее смещение в сторону симпатического отдела наблюдали при использовании 2мг/л и 8мг/л O_3 по увеличению показателя АМо. Повышение показателя ВПР при хроническом воздействии озона во всех исследуемых концентрациях (0,6мг/л, 2мг/л и 8мг/л O_3) связано с недостаточной функцией парасимпатического отдела,

вегетативных центров черепно-мозговых центров продолговатого мозга. Выявленные изменения данных показателей свидетельствуют о включении в процесс регуляции сердечного ритма надсегментарного уровня (подкоркового и коркового). Под влиянием озона во всех исследуемых концентрациях (0,6мг/л, 2мг/л и 8мг/л O₃) в отличие от интактных крыс повышение индекса напряжения указывало на возрастание активности центрального контура регуляции (надсегментарного уровня) для обеспечения мобилизации дополнительных функциональных резервов организма. При хроническом воздействии озона в концентрациях 0,6мг/л, 2мг/л и 8мг/л O₃, возможно, вследствие стенозирующего поражения артерий, что проявлялось ростом ЧСС, формировался дисбаланс между парасимпатическим и симпатическим отделами ВНС со смещением активности в сторону симпатического отдела вегетативной регуляции на фоне недостаточной активности парасимпатического звена, что являлось причиной затруднений адаптационных процессов. Вследствие гемодинамических нарушений при хроническом воздействии всех исследуемых концентраций озона (0,6мг/л, 2мг/л и 8мг/л O₃) развивалась дисфункция парасимпатических сегментарных центров и нарушение сопряженного взаимодействия между отделами ВНС, что приводило к гомеостатическим сдвигам в сторону повышения симпатического влияния на CCC (Субботина и др., 2015).

Спектральный анализ ВСР крыс в условиях хронического воздействия разных доз озона (0,6мг/л, 2мг/л и 8мг/л) выявил снижение TP, LF, HF, VLF и рост LF/HF. Выявленные изменения перечисленных параметров свидетельствовали о снижении адаптационных возможностей CCC, а, следовательно, об уменьшении стрессовой устойчивости организма (уменьшение TP), снижении активности симпатических центров продолговатого мозга (кардиостимулирующего и вазоконстрикторного) (уменьшение LF), снижении активности парасимпатического кардиоингибиторного центра продолговатого мозга (уменьшение HF), ингибировании центральных эрготропных и гуморально-метаболических

механизмов регуляции сердечного ритма (снижение VLF) (Машаех, 2003). Повышение коэффициента вагосимпатического баланса (LF/HF) под воздействием 0,6мг/л О₃, 2мг/л О₃ и 8мг/л О₃ свидетельствовало об активизации симпатической нервной системы.

При длительном применении физиологического раствора, содержащего озон в исследуемых концентрациях, выявлены различные сдвиги показателей энергетического и окислительного метаболизма. Под воздействием 0,6мг/л О₃ выявлены активация антиоксидантной системы (рост активности СОД, каталазы и ОАА), рост перекисной резистентности мембран эритроцитов (снижение интенсивности ПОЛ и концентрации МДА), гипергликемия и лактатацидоз.

При длительном использовании 2 мг/л О₃ наблюдались лактатацидоз, гипергликемия, интенсификация СРО, компенсаторная активация СОД и каталазы, повышение перекисной резистентности мембран эритроцитов.

При длительном применении 8 мг/л О₃ также наблюдались лактатацидоз, гипергликемия, интенсификация СРО и повышение перекисной резистентности мембран эритроцитов.

3.2. Особенности развития ожоговой болезни в раннем периоде после нанесения комбинированной термической травмы

3.2.1. Состояние системы микроциркуляции и вариабельность сердечного ритма в раннем периоде ожоговой болезни

На 1 день после комбинированной термической травмы на местном уровне выявлена отрицательная динамика изменений микроциркуляции. Уменьшился объёмный кровоток: в околораневой зоне в 1 день КТТ показатель микроциркуляции снизился на 46% ($p=0,026$) в отличие от параметра интактных крыс (табл. 8).

Ответной компенсаторной реакцией со стороны регуляторных влияний было усиление активности факторов активной и пассивной регуляции системы микроциркуляции. Так, на 1 день после КТТ возросла активность

эндотелиальных (на 7% ($p=0,173$)), нейрогенных (на 17% ($p=0,092$)) и миогенных влияний (на 39% ($p=0,024$)), а также отмечен рост влияния пассивных регуляторных факторов – дыхательной волны (на 47% ($p<0,001$)) и пульсовой волны (на 53% ($p=0,007$)) – относительно значений интактных животных. Показатель шунтирования при этом на 1 сутки после КТТ был меньше 1,0, что отчасти должно было компенсировать дефицит пиального кровотока. Однако, к третьим суткам в условиях нелеченного ожогового шока снижение объёмного микрокровотока было критическим, ПМ уменьшился в 3 раза ($p<0,001$) относительно показателя интактных крыс. Несмотря на остающуюся повышенную активность регуляторных систем на 3 день КТТ в отличие от интактных крыс: эндотелиальный фактор – на 6% ($p=0,312$), нейрогенный – на 39% ($p=0,016$), миогенный фактор – на 64% ($p=0,008$), дыхательная волна – в 2 раза ($p<0,001$), пульсовая волна – на 23% ($p=0,015$) и, казалось бы, удовлетворительное состояние шунтирующих путей ($\text{ПШ} < 1,0$, при этом ПШ уменьшился в отличие от интактных крыс на 18% ($p=0,027$)), на периферии объёмный микрокровоток был резко снижен и не выполнял своей транспортной функции (рис. 24).

Таблица 8

Состояние микроциркуляции при термической травме

	ПМ, перф.ед.	Э, у.е.	Н, у.е.	М, у.е.	Д, у.е.	С, у.е.	ПШ, перф.ед.
Интактные крысы	9,45±0,85	12,93±1,15	9,15±0,86	8,37±0,81	5,80±0,49	3,33±0,27	1,14±0,08
КТТ, 1 сутки	5,06±0,42 *	13,81±1,26	10,74±0,87	11,63±1,05 *	8,51±0,69 *	5,11±0,37 *	0,91±0,07 *
КТТ, 3 сутки	2,75±0,25 *Δ	13,65±1,24	12,73±1,15 *	13,71±0,25 *Δ	13,16±1,07 *Δ	4,08±0,35 *Δ	0,93±0,07 *

Примечание: * - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p<0,05$); Δ - различия статистически значимы по сравнению с КТТ 1 сутки ($p<0,05$).

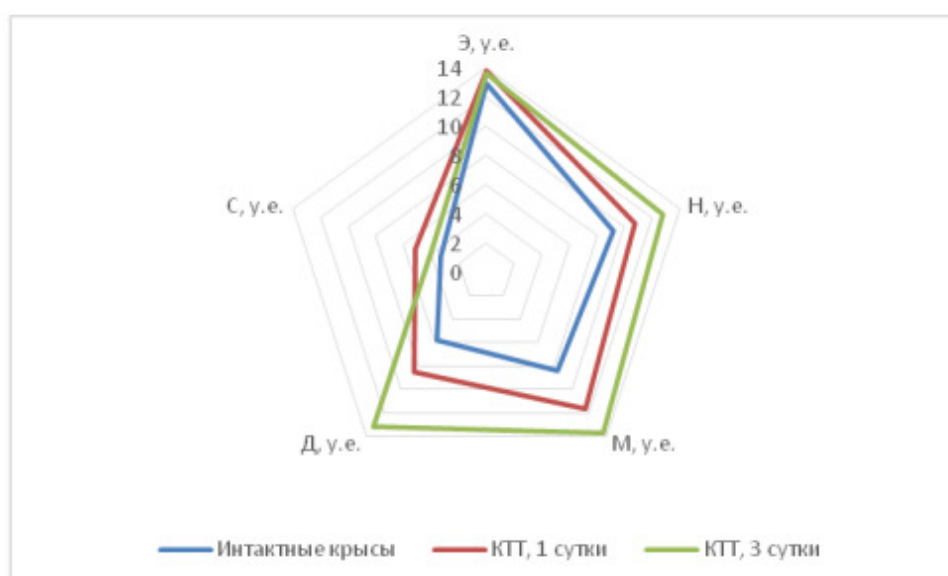


Рис. 24. Уровень регуляторных компонентов микроциркуляции при термической травме

При анализе вариационной пульсометрии у крыс на 1 день КТТ отмечались следующие особенности: все показатели вариабельности сердечной деятельности свидетельствовали о значительном перенапряжении системы вегетативной регуляции сердечного ритма (табл. 9).

Таблица 9

Временной анализ ВСР при термической травме

Показатель ВСР	Интактные крысы	КТТ, 1 сутки	КТТ, 3 суток
ЧСС, уд./мин	228,31±21,55	382,16±34,75*	245,43±22,31Δ
Мода, с	0,24±0,02	0,16±0,01*	0,20±0,02Δ
АМо, %	31,22±2,85	43,55±3,78*	36,41±2,39Δ
Вариационный размах, с	0,15±0,01	0,03±0,002*	0,18±0,01Δ
ПАПР, у.е.	130,08±16,43	272,19±25,68*	182,05±9,16*Δ
RMSSD,мс	35,71±1,19	2,21±0,19*	9,54±0,86*Δ
ИН, у.е.	381,82±34,63	7002,09±636,27*	863,41±78,39*Δ
SDNN,с	26,13±2,41	2,65±0,23*	6,44±0,59*Δ
ИБР, у.е.	215,71±19,58	2144,59±195,37*	322,47±29,35*Δ
ВПР, у.е.	51,12±4,59	485,91±44,13*	69,69±6,35*Δ
CV, %	13,71±1,24	1,67±0,14*	36,07±3,37*Δ
pNN5, мс	17,31±1,59	1,21±0,02*	3,22±0,29*Δ

Примечание: * - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p<0,05$); Δ - различия статистически значимы по сравнению с КТТ 1 сутки ($p<0,05$).

В первые сутки после термической травмы, в фазу ожогового шока, у всех животных на фоне снижения объёмного микрокровотока отмечено увеличение сердечного ритма на 67% ($p=0,022$) в отличие от интактных крыс, как ответная адренэргическая реакция на травматический стресс. Об усилении симпатической активности вегетативной нервной системы свидетельствовало возрастание показателей АМо, ИВР, ПАПР, ИН на 40% ($p=0,013$), в 10 раз ($p<0,001$), в 2 раза ($p<0,001$), в 18 раз ($p<0,001$) соответственно относительного параметров интактных животных. При этом активность гуморального канала регуляции ритма сердца (Мода) была снижена на 33% ($p=0,015$) в отличие от интактных крыс, что наряду со снижением влияния блуждающих нервов на дыхательные изменения сердечного ритма свидетельствовало об ослаблении тонуса парасимпатической нервной системы на 1 сутки после КТТ: вариационный размах был снижен в 5 раз ($p<0,001$) по отношению к параметру интактных животных. Показатели временной области вариабельности сердечного ритма фиксировали снижение механизмов вегетативной регуляции функции кровообращения, связанное с развитием ожогового шока. Уменьшение вариабельности длины волны в стандартном отклонении всех интервалов (SDNN) в 10 раз ($p<0,001$) и квадратного корня из суммы квадратов разностей величин последовательных пар RR-интервалов (RMSSD) – в 16 раз ($p=0,001$) в 1 сутки после КТТ относительно показателей интактных крыс подтверждали значительное падение активности парасимпатического звена регуляции и смещение вегетативного равновесия в сторону преобладания симпатической нервной системы.

К третьим суткам после ожоговой травмы наблюдалось урежение ЧСС на 36% ($p=0,024$) относительно показателя крыс с КТТ на первые сутки, показатель ЧСС на 3 сутки после КТТ нормализовался. При этом на 3 сутки после ожога также наблюдалась нормализация параметра Моды и таких показателей, как АМо, вариационный размах. На 3 сутки после КТТ были повышены показатели ПАПР, ИН, ИВР, ВПР на 40% ($p=0,012$), в 2 раза

($p < 0,001$), на 50% ($p = 0,016$) и на 36% ($p = 0,009$) соответственно в отличие от интактных крыс, что указывало на преобладание симпатического отдела вегетативного баланса. Изменение данных показателей говорит о включении в процесс регуляции сердечного ритма надсегментарного уровня (подкоркового и коркового), а рост индекса напряжения по сравнению с нормой указывает на возрастание активности центрального контура регуляции (надсегментарного уровня) для обеспечения мобилизации дополнительных функциональных резервов организма (Субботина и др., 2015). В результате на 3 сутки после травмы отмечено снижение значений показателей пульсометрии по сравнению с параметрами крыс с ожогом на 1 сутки: ПАПР – на 33% ($p = 0,008$), ИВР – в 6,6 раза ($p < 0,001$), ВПР – в 7 раз ($p < 0,001$), ИН – в 8 раз ($p < 0,001$), что свидетельствовало о регрессе процессов адекватной регуляции вариабельности сердца со стороны ВНС.

Спектральный анализ вариабельности сердечного ритма выявил статистически значимое снижение всех исследуемых показателей на первые сутки после КТТ в отличие от параметров интактных крыс: TP – в 2,3 раза ($p < 0,001$), LF – в 1,6 раза ($p = 0,019$), HF – в 12 раз ($p < 0,001$), VLF – в 2,4 раза ($p < 0,001$) (табл. 10, рис. 25). Снижение общей мощности колебаний кардиоритма (TP) на 1 сутки после нанесения комбинированной термоингаляционной травмы свидетельствовало о низком суммарном уровне активности различных звеньев регуляторных механизмов и, как следствие, о понижении адаптационных возможностей и стрессоустойчивости организма. Спектральная мощность низких частот LF характеризовала развитие стресса и уменьшение активности симпатических центров продолговатого мозга (кардиостимулирующего и вазоконстрикторного) на первый день после КТТ. На снижение активности центральных эрготропных и гуморально-метаболических механизмов регуляции сердечного ритма указывало уменьшение VLF на первый день после травмы. При этом, при расчете коэффициента вагосимпатического баланса (LF/HF) отмечен его рост в 7,8 раза ($p < 0,001$) на 1 сутки после травмы, что указывало на активацию

симпатической нервной системы.

Таблица 10

Спектральный анализ ВСР при термической травме

Показатель ВСР	Интактные крысы	КТТ, 1 сутки	КТТ, 3 сутки
TP, мс ²	25,92±2,31	11,35±1,07*	20,23±1,07*Δ
LF, мс ²	6,21±0,56	3,95±0,17*	3,78±0,95*
HF, мс ²	17,62±1,59	1,45±0,17*	2,54±0,43*Δ
VLF, мс ²	2,11±0,19	0,89±0,08*	4,97±0,48*Δ
LF/HF, отн.ед.	0,35±0,02	2,72±0,01*	1,49±0,05*Δ

Примечание: * - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p<0,05$); Δ - различия статистически значимы по сравнению с КТТ 1 сутки ($p<0,05$).

На 3 сутки после КТТ все исследуемые показатели спектрального анализа статистически значимо отличались от параметров интактных крыс, при этом были понижены TP (на 22% ($p=0,041$)), HF (в 7 раз ($p<0,001$)) и LF (в 1,6 раза ($p=0,008$)), а повышены VLF (в 2,4 раза ($p<0,001$)) и LF/HF (в 4 раза ($p<0,001$)) (табл. 10, рис. 25). Таким образом, оценка динамики изменений вариабельности сердечного ритма в частотной области у крыс на протяжении периода ожогового шока позволила установить, что на 3-и сутки после травмы вариабельность сердечного ритма, несмотря на восстановившийся показатель частоты сердечных сокращений, была опосредована через нейрогуморальные влияния (симпатические и парасимпатические), которые остались сниженными (TP, HF и LF). На 3 сутки после КТТ повышение VLF и LF/HF свидетельствовало о симпатическом регуляторном влиянии на сердечный ритм.

Таким образом, анализ вариационной пульсометрии выявил значительное перенапряжение системы вегетативной регуляции сердечного ритма у крыс на первые сутки после ожоговой травмы, о чем свидетельствовали статистически значимые изменения всех исследуемых временных показателей вариабельности сердечной деятельности (рост ЧСС, АМо, ПАПР, ИН, ИВР, ВПР и снижение Моды, вариационного размаха, RMSSD, SDNN, CV, pNN5). Выявленные изменения исследуемых параметров

привели к активации симпатического отдела вегетативной регуляции и угнетению активности парасимпатического отдела ВНС, снижению адаптационных процессов. Причиной этому могут быть нарушения гемодинамики, возникающие при КТТ, что и привело к росту симпатического влияния на ССС. На третьи сутки после ожога часть показателей нормализовалась (ЧСС, Мода, АМо, вариационный размах), однако все еще преобладала активность симпатического отдела ВНС.

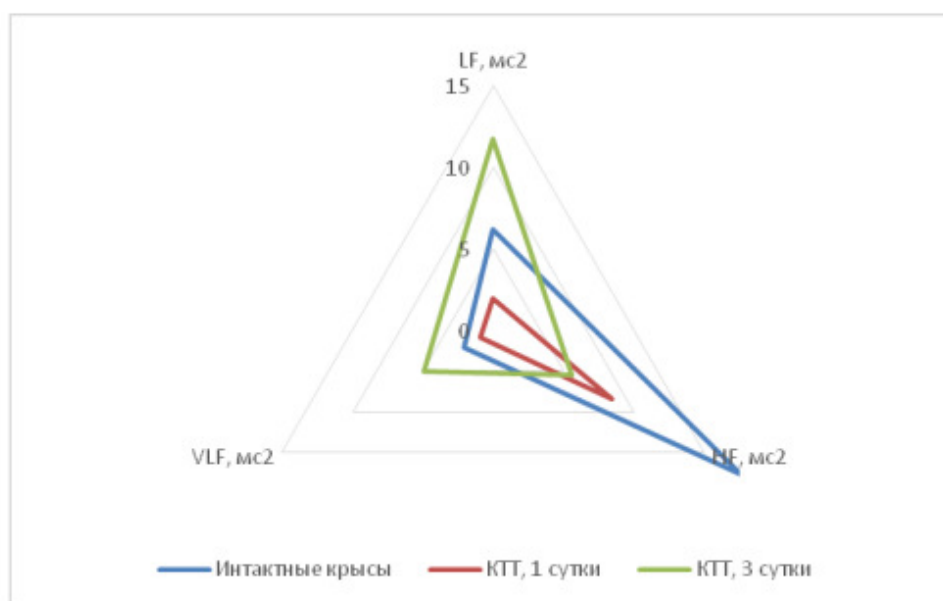


Рис. 25. Мощность частотного спектра факторов регуляции сердечного ритма при термической травме

Спектральный анализ вариабельности сердечного ритма выявил статистически значимое снижение всех исследуемых показателей на 1 сутки после КТТ и, как следствие, уменьшение способности ССС и организма в целом реагировать на стресс. По оценке динамики изменений вариабельности сердечного ритма в частотной области у крыс на 3-и сутки после травмы установлено, что вариабельность сердечного ритма опосредована через нейрогуморальные влияния (симпатические и парасимпатические), которые остались сниженными (TP, HF, LF). В общем спектре снижения мощностей колебаний кардиоритма на третий день после ожога на относительно большем уровне регистрировались низкочастотные колебания (рост VLF) и

повышение LF/HF, что говорило о преимущественном симпатическом регуляторном влиянии на сердечный ритм и подтверждало данные временного анализа ВСР.

Снижение тонуса парасимпатической нервной системы при ожоговом шоке, возможно, обусловлено морфологическими изменениями при ожоге. Согласно данным литературы, после термического поражения в периферической нервной системе и вегетативных центрах происходят структурные нарушения, проявляющиеся некрозом с дальнейшей регенерацией и дистрофией. Морфологические изменения нервных клеток в различных отделах центральной нервной системы, в частности, в узлах блуждающего нерва и симпатических узлах, характеризуются возникновением дефибриллизации, смещением ядер, липоидозом, вакуолизацией, пикнозом, пигментацией. В узлах блуждающего нерва и в симпатических узлах также отмечены сморщивание ганглиозных клеток и образование "клеток-теней". В эректильную стадию ожогового шока наблюдается преимущественно отёк и набухание нервных клеток (Хушкадамов, Девонаев, 2009).

Таким образом, в ранний период ожоговой болезни выраженное нарушение гомеостаза между отделами вегетативной нервной системы, обусловленное изменением регуляции метаболизма, вызывает увеличение симпатического влияния на сердечно-сосудистую систему.

3.2.2. Интенсивность окислительного и энергетического метаболизма крови крыс при термической травме

На 1 сутки после КТТ по данным биохемилюминесценции и уровню МДА отмечена интенсификация СРО в крови крыс, при этом показатель S увеличился в плазме крови на 13% ($p=0,041$), в эритроцитах – на 69% ($p=0,001$) в отличие от параметров интактных крыс (рис. 26).

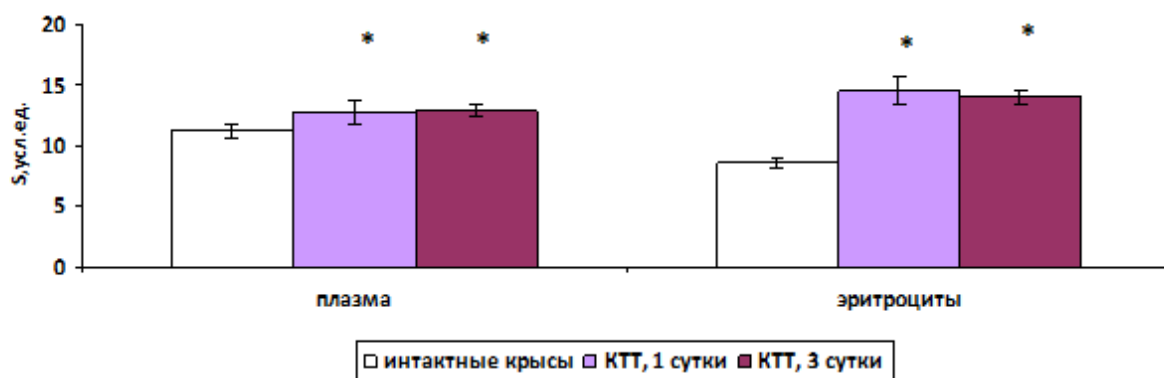


Рис. 26. Показатель S (усл.ед) в крови при термической травме

Примечание: * - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p < 0,05$).

На третий день после КТТ параметр S был повышен в плазме крови на 15% ($p=0,023$), в эритроцитах – на 63% ($p=0,001$) в отличие от интактных крыс (рис. 26).

Концентрация МДА увеличилась на первые сутки после травмы в плазме крови в 2,8 раза ($p < 0,001$), в эритроцитах – на 75% ($p=0,005$), на третьи сутки после ожога уровень МДА был повышен в плазме в 2,5 раза ($p=0,001$), в эритроцитах – на 67% ($p=0,014$) в отличие от соответствующих значений интактных крыс (рис. 27). Интенсификация ПОЛ в эритроцитах может приводить к их разрушению (цитолизу) под влиянием роста АФК, нарушающих синтез вторичных липидных мессенджеров, необходимых для регуляции активности нейротрансмиттеров, таких как ацетилхолин, допамин, норадреналин (Чеснокова и др., 2006; Соловьева, 2020).

Причинами интенсификации биохемилюминесценции крови могут выступать по меньшей мере два фактора, во-первых, истощение как активности, так и компонентов антиоксидантной системы (АОС), а также уменьшение количества субстратов для окисления, в крови преимущественно содержатся насыщенные моноеновые жирные кислоты. Известно, что в стадию ожогового шока активируется липолиз и растет содержание триацилглицеринов и их переносчиков – липопротеинов очень низкой плотности, ингибируется липогенез и уменьшается концентрация холестерина, липопротеинов высокой плотности и липопротеинов низкой

плотности, разобщается работа всех звеньев липидного обмена (синтеза, транспорта, снижение периода полужизни липидов) (Соловьева, 2020). При термической травме показана зависимость роста СРО в крови при ожоге от тяжести поражения (Кантюков и др., 2010).

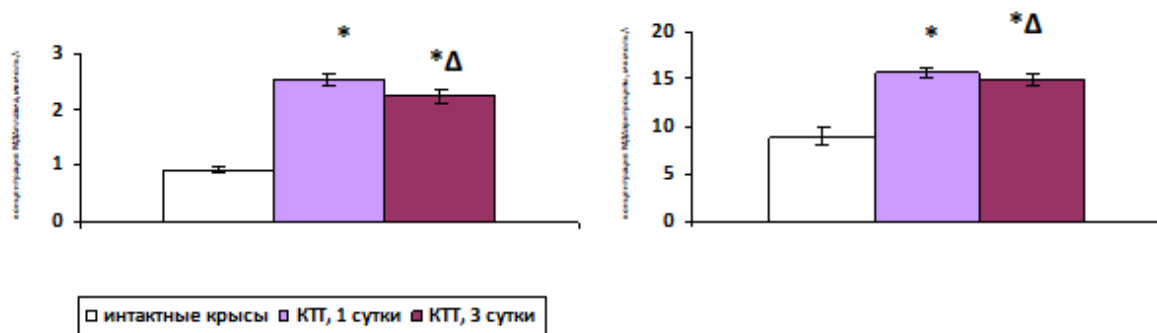


Рис. 27. Концентрация малонового днальдегида (мкмоль/л) в плазме и эритроцитах крови при термической травме

Примечание: * - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p < 0,05$); Δ - различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ ($p < 0,05$).

Самоподдерживаемая инициация перекисного окисления липидов при термической травме приводит к возникновению целого ряда функционально-метаболических нарушений на клеточном и органном уровне: повреждению клеточной стенки, росту микроваскулярной проницаемости, структурному и функциональному изменению мембран клеток, полиорганной недостаточности, развитию острого респираторного дистресс-синдрома, нарушению проницаемости капилляров, расстройству микроциркуляции, отеку легких, уменьшению вентиляции с накоплением в дыхательных путях большого количества слизи, развитию пневмонии (Ушакова, 2008; Соловьева, 2020; Imai et al., 2008; Yin et al., 2011).

Интенсификация СРО в первые трое суток после КТТ сопровождалась ингибированием ферментативного (в эритроцитах) и неферментативного (в плазме крови) звена антиоксидантной защиты в крови, что способствовало развитию окислительного стресса и явилось одним из ключевых звеньев ожоговой болезни. Так в эритроцитах, удельная активность СОД уменьшилась на первые сутки после травмы на 30% ($p = 0,001$) и на третьи

сутки – в 2,2 раза ($p<0,001$), активность каталазы на первые и третьи сутки после КТТ – на 51% ($p=0,013$) и 50% ($p=0,005$) (рис. 28) в отличие от параметров интактных животных.

В.А. Лазаренко и др. (2014), А.В. Глуткин, В.И. Ковальчук (2016) в своих работах также указывали на рост концентрации продуктов ПОЛ и ингибирование активности СОД, каталазы в области термического повреждения, возможно, обусловленное активацией окислительно-восстановительных процессов, падением энергетического обмена в митохондриях, конформационной модификацией СОД и каталазы вследствие развития окислительного стресса (Соловьева, 2020).

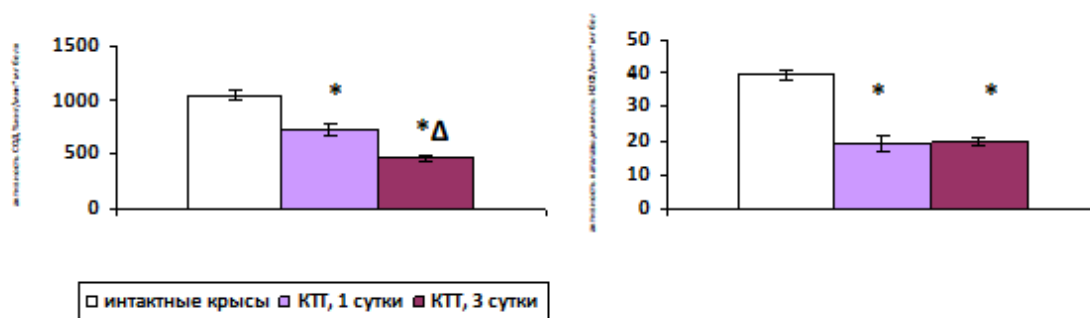


Рис. 28. Активность супероксиддисмутазы (%инг./мин×мг белка) и каталазы (мкмоль H_2O_2 /мин×мг белка) в эритроцитах крови при термической травме

Примечание: * - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p<0,05$); Δ - различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ ($p<0,05$).

В проведенном исследовании и работе А.В. Поликарповой, Е.Э. Перского (2009) показано, что максимальная интенсивность СРО наблюдалась через 1 час после травмы.

В плазме крови показатель $\text{tg}2\alpha$ уменьшился на первые сутки после КТТ на 11% ($p<0,001$) и остался пониженным на третьи сутки на 4% ($p=0,154$) в отличие от интактных животных (рис. 29).

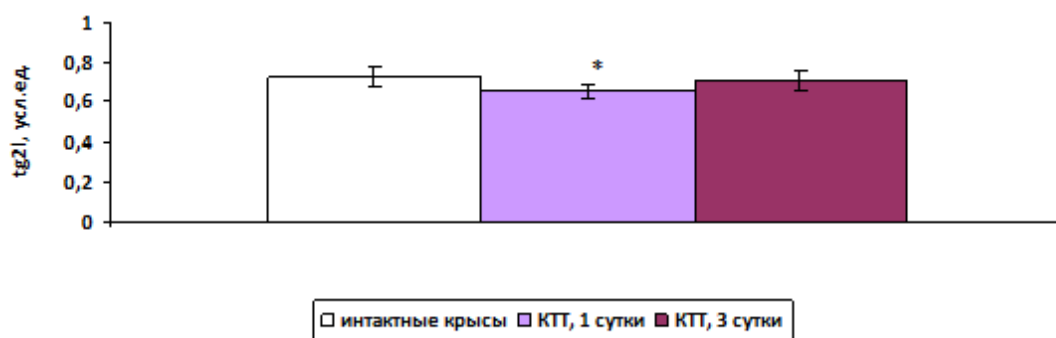


Рис. 29. Показатель tg2α (усл.ед.) в плазме крови при термической травме

Примечание: * - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p < 0,05$).

К повышению концентрации МДА может приводить снижение активности АлДГ, субстратом которого он выступает. Проведенные исследования выявили снижение удельной активности АлДГ в эритроцитах крови крыс на первые и третьи сутки после КТТ в 2 раза ($p < 0,0001$) в отличие от интактных животных (рис. 30).

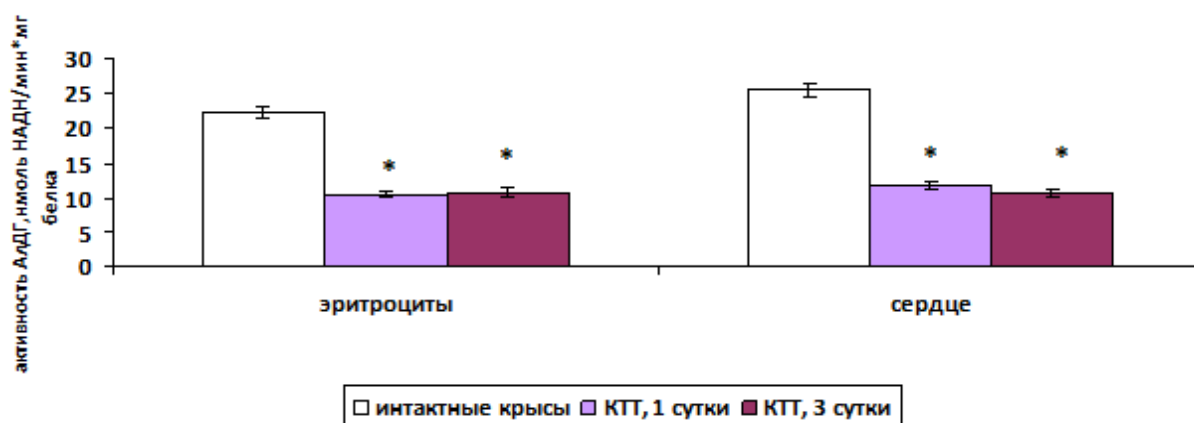


Рис. 30. Активность альдегиддегидрогеназы (нмоль НАДН/мин×мг белка) в крови и сердце крыс с комбинированной термической травмой

Примечание: * - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p < 0,05$).

Интенсификация СРО при КТТ обусловлена, в частности, развитием гипоксии органов и тканей в ответ на термическое воздействие. О возникновении гипоксии при КТТ свидетельствовал рост концентрации молочной кислоты в плазме (на первый день после травмы – на 10% ($p = 0,042$), на третий день – на 21% ($p = 0,017$)) и эритроцитах крови (на 1

сутки – на 59% ($p=0,003$), на 3 сутки – на 87% ($p=0,001$)) (рис. 31). Следствием увеличения содержания лактата выступает метаболический ацидоз.

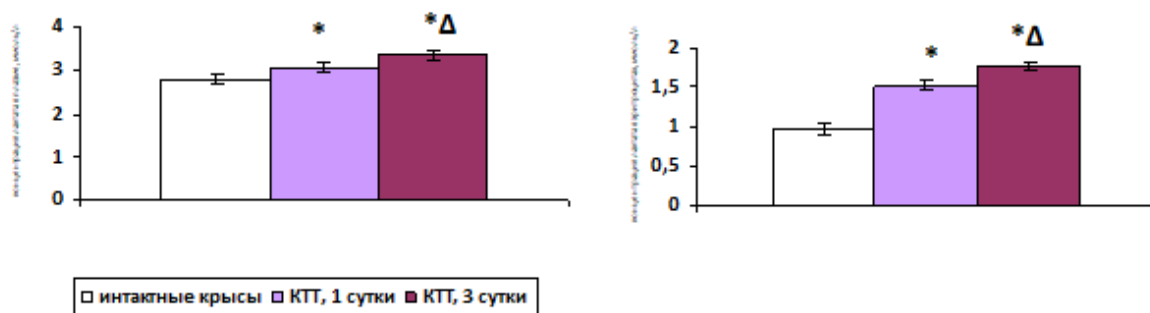


Рис. 31. Концентрация лактата (ммоль/л) в плазме и эритроцитах крови при термической травме

Примечание: * - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p<0,05$); Δ - различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ ($p<0,05$).

Лактат может использоваться для синтеза глюкозы в цикле Кори. Проведенные исследования выявили рост уровня глюкозы в плазме (на первый день после травмы – на 39% ($p=0,022$), на третьи сутки – на 67% ($p=0,001$)) и эритроцитах крови (на первый день – в 2,2 раза ($p<0,001$), на третий день – в 2,2 раза ($p<0,001$)) при КТТ в отличие от интактных животных (рис. 32), свидетельствуя об интенсификации глюконеогенеза.

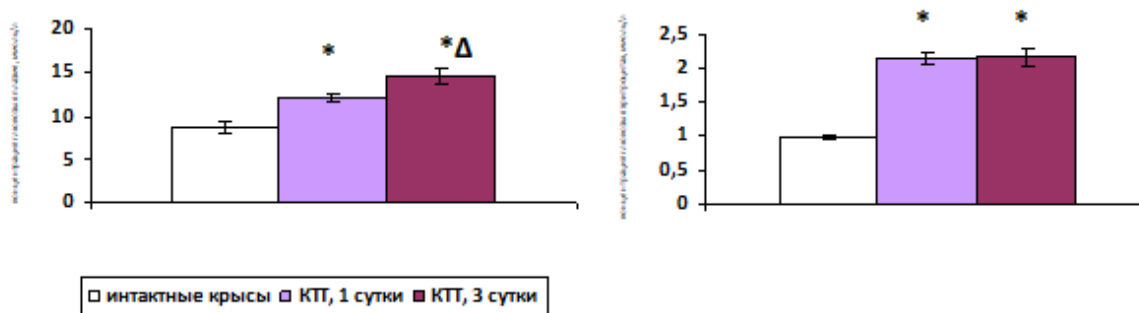


Рис. 32. Концентрация глюкозы (ммоль/л) в плазме и эритроцитах крови при термической травме

Примечание: * - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p<0,05$); Δ - различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ ($p<0,05$).

Рост уровня лактата при КТТ может быть вызван ингибированием лактатдегидрогеназы, участвующей в его метаболизме. При КТТ выявлено

снижение удельной активности ЛДГпр и ЛДГобр в эритроцитах (рис. 33) в отличие от параметров intactных животных. Удельная активность ЛДГпр уменьшилась на первые сутки после травмы в 2,9 раза ($p<0,0001$), на третьи сутки – в 2,6 раза ($p<0,0001$). Удельная активность ЛДГобр снизилась на первый день после ожога на 43% ($p=0,012$), на третий день – на 41% ($p=0,003$).

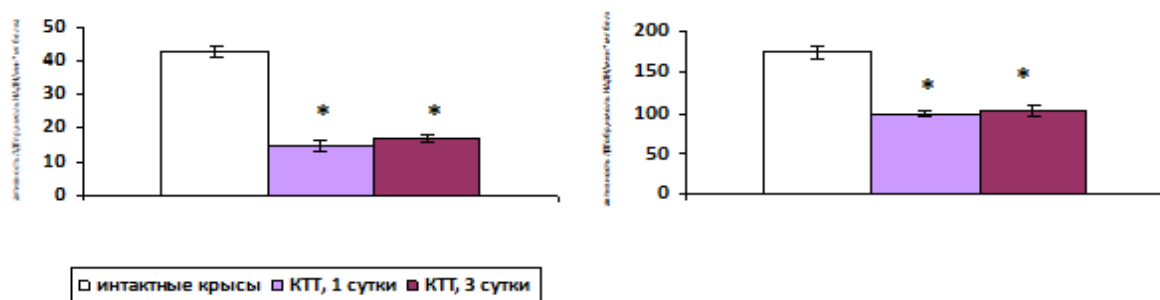


Рис. 33. Активность лактатдегидрогеназы в прямой и обратной реакции (нмоль НАДН/мин×мг белка) в эритроцитах крови при термической травме
Примечание: * - различия статистически значимы по сравнению с intactными крысами ($p<0,05$).

Для оценки динамики метаболизма расчет КБЭР показал его снижение в эритроцитах крови на первый и третий день после КТТ в 2,8 ($p<0,001$) и 2,1 ($p<0,001$) раза соответственно относительно параметра intactных животных (табл. 11), что привело к увеличению содержания молочной кислоты.

Таблица 11

Коэффициент баланса энергетических реакций
в крови и сердце крыс с комбинированной термической травмой

Объект исследования	Условия эксперимента	КБЭР
Кровь	интактные крысы	6,04±0,25
	КТТ, 1 сутки	2,16±0,09*
	КТТ, 3 сутки	2,88±0,11*Δ
Гомогенат сердца	интактные крысы	63,19±2,03
	КТТ, 1 сутки	43,99±1,23*
	КТТ, 3 сутки	45,02±2,01*

Примечание: * - различия статистически значимы по сравнению с intactными крысами ($p<0,05$); Δ - различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ ($p<0,05$).

3.2.3. Исследование воздействия оксидативного стресса на метаболизм сердца при экспериментальной термической травме

Почти у половины пострадавших от термического воздействия диагностируется сердечно-сосудистая недостаточность, возникают тахикардия и нарушения ритма сердечной деятельности, гемодинамика становится нестабильной, часто имеются признаки гипотонии (Соловьева, 2020). В основе одного из возможных механизмов патологических нарушений сердечной мышцы при ожоге лежит рост АФК (Свириева, 2008).

В гомогенате сердца также выявлена интенсификация СРО на исследуемые сутки после ожога. В первый день после КТТ параметр S увеличился на 78% ($p=0,012$), концентрация МДА возросла в 2,2 раза ($p<0,001$) (рис. 34). На 3 сутки после травмы отмечен рост показателя S на 72% ($p=0,006$), уровня МДА – в 2,3 раза ($p<0,001$) в отличие от значений интактных крыс.

Каталитические свойства АлДГ в гомогенате сердца крыс уменьшились на первые сутки в 2,2 раза ($p<0,001$) и на третьи сутки после КТТ в 2,4 раза ($p<0,001$) в отличие от параметра интактных крыс (рис. 30).

На усиление процессов ПОЛ при термической травме указывал рост содержания малонового диальдегида, следовательно возрастали свободно-радикальный синтез макроэргов (АТФ) в митохондриях сердца и клеточная проницаемость (Соловьева, 2020; Saraf et al., 2016).

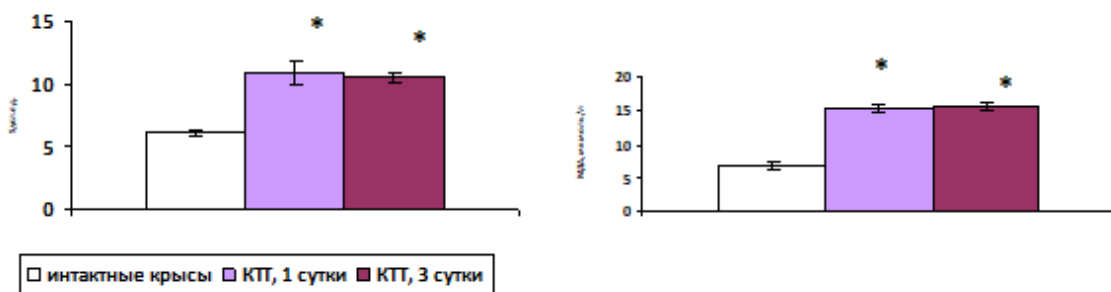


Рис. 34. Показатели СРО (показатель S (усл.ед), концентрация малонового диальдегида (мкмоль/л)) в сердце при термической травме

Примечание: * - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p<0,05$).

Показано снижение общей и ферментативной антиоксидантной активности в ранний период после ожога в гомогенате сердца. В первый день после КТТ удельная активность каталазы и СОД уменьшилась на 38% ($p=0,007$) и 24% ($p=0,036$), на третьи сутки – на 34% ($p=0,005$) и 27% ($p=0,018$) по отношению к значениям интактных крыс (рис. 35). Общая антиоксидантная активность в гомогенате сердца снизилась на первые сутки после ожога на 37% ($p=0,021$), на третьи сутки – на 35% ($p=0,011$) в отличие от интактных животных (рис. 36).

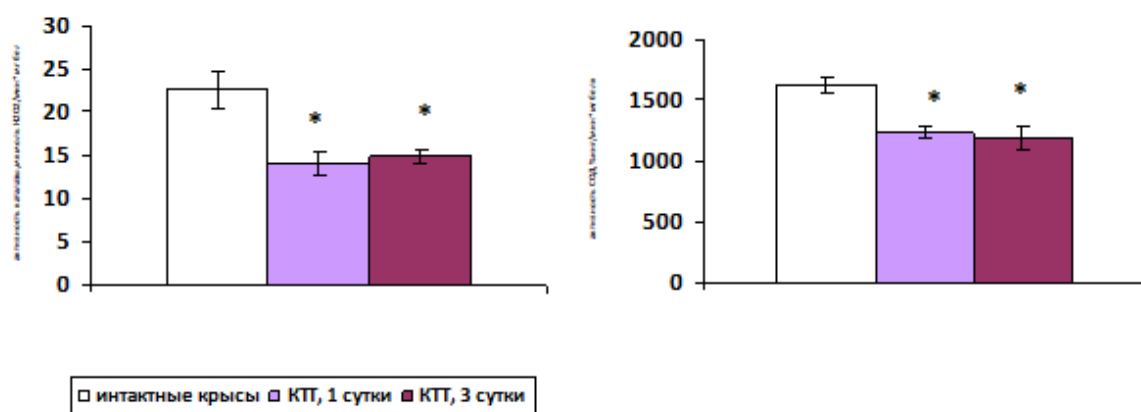


Рис. 35. Активность каталазы ($\text{мкмоль H}_2\text{O}_2/\text{мин} \times \text{мг белка}$) и супероксиддисмутазы ($\% \text{инг./мин} \times \text{мг белка}$) в сердце при термической травме

Примечание: * - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p < 0,05$).

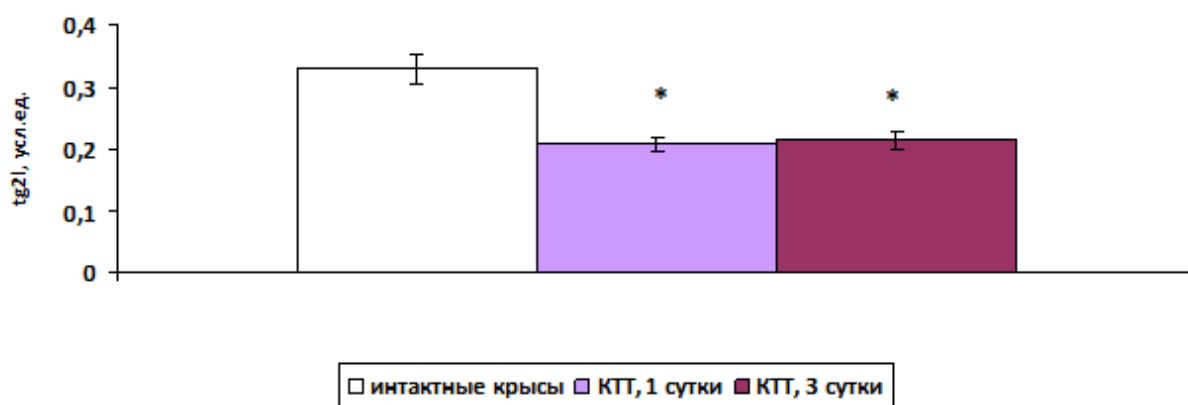


Рис. 36. Показатель tg2 α (усл.ед.) в сердце при термической травме

Примечание: * - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p < 0,05$).

В проведенном исследовании показано снижение удельной активности

ЛДГпр и ЛДГобр в ткани сердца крыс (рис. 37) после КТТ в отличие от значений интактных крыс: активность ЛДГпр уменьшилась в первый день после травмы на 28% ($p=0,031$), на третьи сутки – на 26% ($p=0,010$); удельная активность ЛДГобр снизилась на первые сутки после ожога на 14% ($p=0,028$), на третий день – на 11% ($p=0,042$).

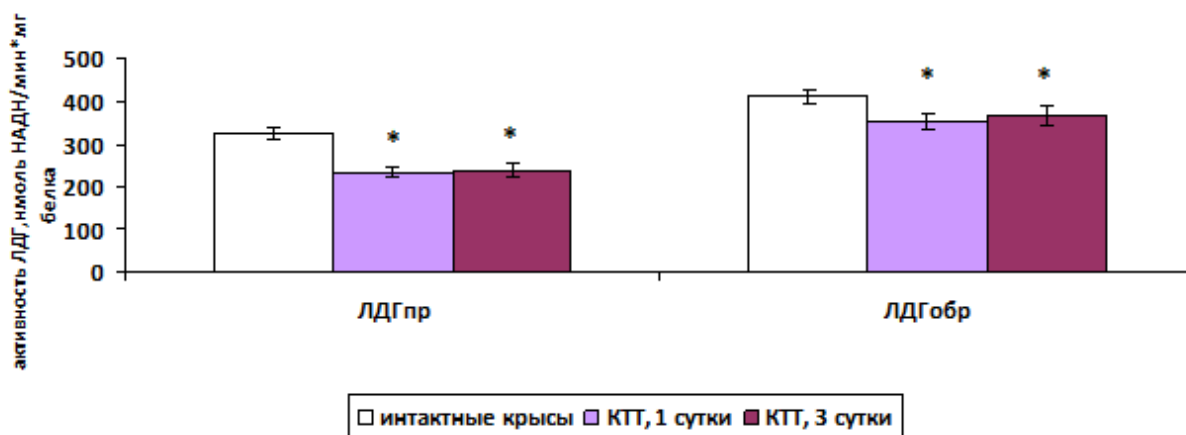


Рис. 37. Активность лактатдегидрогеназы (нмоль НАДН/мин×мг белка) в сердце при термической травме

Примечание: * - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p<0,05$).

При этом КБЭР снизился в ткани сердца на первые и третьи сутки после КТТ на 30% ($p=0,017$) и 29% ($p=0,021$) раза в отличие от значений интактных животных (табл. 11), свидетельствуя о нарушении энергетического метаболизма и росте концентрации лактата.

Следовательно, можно сделать вывод, что КТТ вызывает рост процессов пероксидации наряду с кровью также в ткани сердца крыс.

Таким образом, полученные результаты выявили возникновение окислительного стресса (ОС) и карбонильного стресса (КС) в ранний период после комбинированной термической травмы, которые проявились в одновременной активации СРО и угнетении АОС, ее общего и ферментативного антиокислительного потенциала, вероятно, за счет того, что организм не успел включиться в адаптационный процесс.

Выявленный дисбаланс в работе про- и антиоксидантной систем организма в период ожогового шока, приводя к формированию ОС, вызывает

развитию системных нарушений в организме. Вследствие этого продукция активных форм кислорода еще больше увеличивается, а гиперпродукция АФК приводит к деструкции различных клеток и клеточных структур, что может лежать в основе патогенеза ОБ, характеризующейся развитием гипоксии, активацией гемостаза и воспалительного ответа, усилением липолиза и ростом в крови содержания жирных кислот, нарушением липидного и белкового обмена в митохондриях (Соловьева, 2020). А активация СРО в митохондриях при ожоге, повышение генерации в них АФК может вызывать повреждение тканей органов. Следовательно, причинами ОС при КТТ могут быть, с одной стороны, чрезмерная продукция АФК, с другой – активация СРО и негативный ответ резервов АОС (Перетягин, Соловьева, 2016; Соловьева, 2020).

3.3. Изучение влияния озонированного физиологического раствора на гемодинамические показатели, окислительный и энергетический метаболизм при комбинированной термической травме

В ходе работы показано, что при ожоге в условиях применения озонированного физиологического раствора на 1 сутки ПШ нормализовался, а ПМ был ниже значения интактных крыс. По сравнению с показателями микроциркуляции у крыс с термической травмой на 1 сутки под влиянием 0,6 мг/л O_3 на 1 сутки КТТ выявлено повышение ПМ на 44% ($p=0,028$) за счет снижения миогенного фактора регуляции на 8% ($p=0,931$) и пассивных факторов регуляции микрокровотока: дыхательного – на 7% ($p=1,056$) и сердечного на 22% ($p=0,016$). По сравнению с показателями микроциркуляции интактных крыс на 1 сутки после воздействия озона при КТТ ПМ был ниже на 23% ($p=0,027$), миогенный, дыхательный и сердечный факторы регуляции были выше на 28% ($p=0,033$), на 37% ($p=0,019$) и на 19% ($p=0,042$) соответственно, эндотелиальный и нейрогенный факторы регуляции микрокровотока, а также ПШ были в пределах нормы (табл. 12).

Таблица 12

**Состояние микроциркуляции при термической травме в условиях
применения озонированного физиологического раствора**

	ПМ, перф.ед.	Э, у.е.	Н, у.е.	М, у.е.	Д, у.е.	С, у.е.	ПШ, перф.ед.
Интактные крысы	9,45±0,85	12,93±1,15	9,15±0,86	8,37±0,81	5,80±0,49	3,33±0,27	1,14±0,08
КТТ, 1 сутки	5,06±0,42 *	13,81±1,26	10,74±0,87	11,63±1,05 *	8,51±0,69 *	5,11±0,37 *	0,91±0,07 *
КТТ, 3 сутки	2,75±0,25 *Δ	13,65±1,24	12,73±1,15 *	13,71±0,25 * Δ	13,16±1,07 * Δ	4,08±0,35 * Δ	0,93±0,07 *
Контроль 1 (КТТ+физ.р- р; 1 сутки)	6,33±0,51 *Δ	12,63±1,09	14,68±1,34 *Δ	14,66±1,34 *Δ	9,14±0,32 *	7,66±0,85 *Δ	0,92±0,08 *
Контроль 2 (КТТ+физ.р- р; 3 сутки)	5,81±0,26 *#	13,89±1,34	13,09±1,19 * Δ	11,04±1,01 * # ω	11,99±1,08 * Δ ω	6,32±0,78 *#	1,84±0,16 * Δ #ω
Опыт 1 (КТТ, 0,6мг/л Оз; 1 сутки)	7,31±0,39 * Δ ω	12,85±1,07	9,83±0,59 ω	10,72±0,83 * ω	7,93±0,91 *	3,97±0,15 * Δ ω	1,02±0,07
Опыт 2 (КТТ, 0,6мг/л Оз; 3 сутки)	8,75±0,43 # Δ ω μ&	12,06±0,91	8,52±0,55 Δ # ω μ&	9,41±0,68 Δ # ω	7,55±0,35 *# ω μ	3,93±0,08 * Δ ω μ	0,99±0,08 μ

Примечание: * - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p<0,05$); Δ - различия статистически значимы по сравнению с КТТ 1 сутки ($p<0,05$); # - различия статистически значимы по сравнению с КТТ 3 сутки ($p<0,05$); ω - различия статистически значимы по сравнению с контролем 1 ($p<0,05$); μ - различия статистически значимы по сравнению с контролем 2 ($p<0,05$); & - различия статистически значимы по сравнению с опытом 1 ($p<0,05$).

Применение физиологического раствора, содержащего озон, при КТТ на третьи сутки вызвало нормализацию ПМ, ПШ, активных факторов регуляции микрокровотока (Э, Н и М). При этом по сравнению с показателями микроциркуляции интактных крыс на 3 сутки после воздействия озона при КТТ значения пассивных факторов регуляции микрокровотока были выше: дыхательного – на 30% ($p=0,027$), сердечного – на 18% ($p=0,039$) (табл. 12). По сравнению с показателями микроциркуляции крыс с термической травмой на 3 сутки под влиянием 0,6 мг/л О₃ на 3 сутки КТТ отмечен рост ПМ в 3 раза ($p<0,001$) за счет снижения активных

факторов регуляции микрокровотока (нейрогенного – на 30% ($p=0,007$) и миогенного – на 32% ($p=0,011$)) и пассивного фактора регуляции микроциркуляции – дыхательного – на 43% ($p=0,021$).

В контроле 1 и 2 исследуемые показатели микроциркуляции, кроме значений эндотелиального фактора регуляции микрокровотока, статистически значимо отличались от параметров интактных крыс, что указывало на отсутствие положительного влияния использования физиологического раствора на состояние микроциркуляции: в контроле 1 ПМ и ПШ были ниже на 30% ($p=0,022$) и 19% ($p=0,031$) соответственно, а нейрогенный, миогенный, дыхательный и сердечный факторы регуляции микрокровотока увеличились на 60% ($p=0,007$), 75% ($p=0,012$), 58% ($p=0,016$), в 2 раза ($p<0,001$) соответственно; в контроле 2 ПМ был ниже на 38% ($p=0,027$), а нейрогенный, миогенный, дыхательный, сердечный факторы регуляции микрокровотока и ПШ возросли на 43% ($p=0,023$), 32% ($p=0,040$), в 2 раза ($p<0,001$), на 90% ($p<0,001$), на 61% ($p=0,004$) соответственно. Однако, в отличие от показателей крыс с ожогом на 1 сутки без лечения у животных контроля 1 ПМ увеличился на 25% ($p=0,033$) за счет роста активности нейрогенного, миогенного и сердечного факторов регуляции микрокровотока на 37% ($p=0,019$), на 26% ($p=0,021$), на 50% ($p=0,008$). По сравнению с показателями микроциркуляции у крыс с термической травмой на 3 сутки в контроле 2 отмечен рост ПМ в 2 раза ($p<0,001$), активности сердечного фактора регуляции микрокровотока на 55% ($p=0,012$) и ПШ на 98% ($p<0,001$), и снижение М на 19% ($p=0,036$).

Временной анализ ВСР при ожоге в условиях применения озонированного физиологического раствора на 1 сутки выявил статистически значимые различия всех исследуемых показателей, кроме Моды, в отличие от интактных крыс. На фоне параметров ВСР животных с термической травмой на 1 сутки отмечено разнонаправленное изменение ряда исследуемых параметров ВСР на 1 сутки КТТ под влиянием 0,6 мг/л O_3 : снижение ЧСС – на 21% ($p=0,035$), ПАПР – на 25% ($p=0,041$), ИН – в 2 раза ($p<0,001$), ИВР – в

2 раза ($p<0,001$), ВПР – в 2,6 раза, и повышение Моды на 25% ($p=0,031$), вариационного размаха – в 3 раза ($p<0,001$), RMSSD – в 7 раз ($p<0,001$), SDNN – в 4,5 раза ($p<0,001$), CV – в 4,7 раза ($p<0,001$), pNN5 – в 6,8 раза ($p<0,001$), свидетельствуя о снижении симпатических влияний. При этом по сравнению с показателями ВСР интактных крыс на 1 сутки после воздействия озона при КТТ показатели ЧСС, ПАПР, ИН, ИБР, ВПР, АМо остались выше на 33% ($p=0,017$), на 57% ($p=0,006$), в 8,6 раза ($p<0,001$), в 4,7 раза ($p<0,001$), в 3,6 раза ($p<0,001$), на 31% ($p=0,027$) соответственно, а показатели вариационного размаха, RMSSD, SDNN, CV, pNN5 были ниже на 40% ($p=0,008$), в 2 раза ($p<0,001$), в 2 раза ($p<0,001$), на 42% ($p=0,016$), в 2 раза ($p<0,001$) соответственно, подтверждая наличие умеренной тахикардии и преобладание симпатических влияний на 1 сутки после воздействия озона при КТТ (табл. 13).

Следует отметить, что в контроле 1 и 2 исследуемые показатели временного анализа ВСР статистически значимо отличались от параметров интактных крыс, что указывало на отсутствие выраженных позитивных сдвигов также и в показателях временного анализа ВСР при использовании физиологического раствора. При этом не было различий между показателями животных контроля 1 и крыс с ожогом на 1 сутки без лечения кроме повышения RMSSD в 2 раза ($p<0,001$), SDNN – в 2 раза ($p<0,001$), CV – на 93% ($p<0,001$), pNN5 – в 5 раз ($p<0,001$) и снижения ИБР в 1,9 раза ($p<0,001$). В отличие от параметров ВСР у крыс с термической травмой на 3 сутки в контроле 2 отмечен рост ЧСС на 92% ($p<0,001$), АМо – на 18% ($p=0,032$), RMSSD – на 41% ($p=0,039$), SDNN – на 53% ($p=0,018$), ИБР – на 94% ($p<0,001$), ВПР – в 2,8 раза ($p<0,001$), pNN5 – в 2,6 раза ($p<0,001$) и снижение CV – на 32% ($p=0,027$).

Таблица 13

Временной анализ ВСР при термической травме в условиях применения
озонированного физиологического раствора

Показатель ВСР	Интактные крысы	КТТ, 1сутки	КТТ, 3 сутки	Контроль 1 (КТТ+физ. р-р; 1 сутки)	Контроль 2 (КТТ+физ.р- р; 3 сутки)	Опыт 1 (КТТ, 0,6мг/л О ₃ ; 1 сутки)	Опыт 2 (КТТ, 0,6мг/л О ₃ ; 3 сутки)
ЧСС, уд.мин	228,31 ±21,55	382,16 ±34,75*	245,43 ±22,31Δ	449,34 ±39,27*	471,28 ±31,15* Δ #	303,15 ±27,53 *Δω	201,82 ±18,3 Δ μ&
Мода, с	0,24±0,02	0,16±0,01 *	0,20±0,02 Δ	0,18±0,01 *	0,20±0,02 Δ	0,20±0,02 Δ	0,25±0,02 Δμω&
АМо, %	31,22±2,85	43,55±3,78 *	36,41±2,39 Δ	49,71±2,08 *	42,83±3,27 *#	40,85±1,63 *ω	34,26±1,31 Δω&
Вариацион ный размах, с	0,15±0,01	0,03±0,00 *	0,18±0,01 Δ	0,02±0,00 *	0,20±0,01 *Δω	0,09±0,00 *Δω	0,16±0,00 #Δωμ&
ПАПР, у.е.	130,08 ±16,43	272,19 ±25,68 *	182,05 ±9,16 *Δ	276,16 ±34,95 *	214,15 ±26,78 *	204,25 ±18,06 *Δω	137,04 ±12,15 Δ#ωμ&
RMSSD,мс	35,71±3,19	2,21±0,19 *	9,54±0,86 *Δ	4,88±0,65 *Δ	13,42±1,75 *Δ#ω	15,61±1,48 *Δω	27,22±1,36 *Δ#ω μ&
ИН, у.е.	381,82 ±34,63	7002,09 ±636,27 *	863,41 ±78,39 *Δ	6598,11 ±75,89 *	1015,78 ±62,54 *Δ ω	3290,42 ±199,63 *Δω	557,45 ±38,64 *Δω #μ&
SDNN,с	26,13±2,41	2,65±0,23 *	6,44±0,59 *Δ	5,33±0,49 *Δ	9,83±0,67 *Δ#ω	11,97±0,53 *Δω	19,62±0,41 *Δ#ωμ&
ИБР, у.е.	215,71 ±19,58	2144,59 ±195,37 *	322,47 ±29,35 *Δ	1150,27 ±106,88 *Δ	624,93 ±41,38 *Δ #ω	1005,43 ±67,21 *Δω	274,21 ±18,53 *Δμ&
ВПР, у.е.	51,12 ±4,59	485,91 ±44,13 *	69,69 ±6,35 *Δ	458,37 ±42,64 *	197,34 ±11,65 *Δ#ω	184,25 ±16,33 *Δω	58,55 ±6,92 Δωμ&
CV, %	13,71±1,24	1,67±0,14 *	36,07±3,37 *Δ	3,22±0,19 *Δ	24,41±0,35 *Δ#ω	7,92±0,26 *Δω	14,66±0,58 Δ#ωμ&
pNN5, мс	17,31±1,59	1,21±0,02 *	3,22±0,29 *Δ	6,05±0,23 *Δ	8,34±0,61 *Δ#ω	8,22±0,47 *Δω	13,44±0,59 *Δω#μ&

Примечание: * - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами (p<0,05); Δ - различия статистически значимы по сравнению с КТТ 1 сутки (p<0,05); # - различия статистически значимы по сравнению с КТТ 3 сутки (p<0,05); ω - различия статистически значимы по сравнению с контролем 1 (p<0,05); μ - различия статистически значимы по сравнению с контролем 2 (p<0,05); & - различия статистически значимы по сравнению с опытом 1 (p<0,05).

Применение физиологического раствора, насыщенного озоном, при

КТТ на 3 сутки вызвало нормализацию ряда показателей временного анализа ВСР: ЧСС, Мода, АМо, вариационный размах, ПАПР, ВПР, CV. При этом по сравнению с показателями ВСР интактных крыс на 3 сутки после воздействия озона при КТТ показатели ИН, ИВР остались выше на 46% ($p=0,019$), на 27% ($p=0,034$) соответственно, а показатели RMSSD, SDNN, pNN5 были ниже на 24% ($p=0,028$), на 25% ($p=0,033$), на 22% ($p=0,031$) соответственно (табл. 13). По сравнению с показателями ВСР крыс с термической травмой на 3 сутки отмечено разнонаправленное изменение ряда исследуемых параметров ВСР на 3 сутки КТТ под влиянием 0,6 мг/л О₃: снижение вариационного размаха – на 11% ($p=0,042$), ПАПР – на 25% ($p=0,037$), ИН – на 35% ($p=0,012$), CV – в 2 раза ($p<0,001$) и повышение RMSSD в 2,9 раза ($p<0,001$), SDNN – в 3 раза ($p<0,001$), pNN5 – в 4 раза ($p<0,001$).

Спектральный анализ ВСР при ожоге в условиях применения озонированного физиологического раствора на 1 и 3 сутки также выявил статистически значимые различия всех исследуемых показателей, кроме HF на 1, 3 сутки и LF/HF на третий день, в отличие от значений интактных крыс. В отличие от параметров спектрального анализа ВСР крыс с термической травмой на 1 сутки отмечено повышение параметров ВСР на 1 сутки КТТ под влиянием 0,6 мг/л О₃: TP – в 3,6 раза ($p<0,001$), LF – в 2,5 раза ($p<0,001$), HF – в 13,6 раза ($p<0,001$), VLF – в 10 раз ($p<0,001$), и соответственно снижение LF/HF – в 5 раз, что также говорило о снижении симпатических влияний (табл. 14). При этом по сравнению с показателями спектрального анализа ВСР интактных крыс на 1 сутки после воздействия озона при КТТ установлена активация TP, LF, VLF, LF/HF на 57% ($p=0,013$), на 62% ($p=0,007$), в 4 раза ($p<0,001$), на 46% ($p=0,021$), соответственно, и нормализация HF, также подтверждая преобладание симпатических влияний на 1 сутки после воздействия озона при КТТ (повышение LF/HF), активацию центральных эрготропных и гуморально-метаболических механизмов регуляции ритма сердца (рост VLF), наличие эктопических нарушений

сердечного ритма (активация TP), вероятно, за счет тахикардии (повышение ЧСС).

Таблица 14

Спектральный анализ ВСР при термической травме в условиях применения озонированного физиологического раствора

Показатель ВСР	Интактные крысы	КТТ, 1сутки	КТТ, 3 сутки	Контроль 1 (КТТ+физ. р-р: 1 сутки)	Контроль 2 (КТТ+физ. р-р: 3 сутки)	Опыт 1 (КТТ, 0,6мл/л О ₃ , 1 сутки)	Опыт 2 (КТТ, 0,6мл/л О ₃ , 3 сутки)
TP, мс ²	25,92±2,31	11,35±1,07 *	20,23±1,07 *Δ	2,93±0,19 *Δ	2,45±0,22 * Δ # ω	40,61±3,15 *Δ ω	33,67±2,09 *Δ#ωμ&
LF, мс ²	6,21±0,56	3,95±0,17 *	3,78±0,95 *	2,51±0,04 *Δ	0,97±0,07 * Δ # ω	10,03±1,07 *Δ ω	8,08±0,56 *Δ#ωμ&
HF, мс ²	17,62±1,59	1,45±0,17 *	2,54±0,43 *Δ	1,35±0,19 *	1,42±0,11 *#	19,66±1,83 Δ ω	20,73±1,73 Δ#ωμ
VLF, мс ²	2,11±0,19	0,89±0,08 *	4,97±0,48 *Δ	0,25±0,02 *Δ	0,23±0,02 * Δ #	8,94±0,83 *Δ ω	4,52±0,41 *Δωμ&
LF/HF, от.ед.	0,35±0,02	2,72±0,01 *	1,49±0,05 *Δ	1,86±0,09 *Δ	0,68±0,03 * Δ # ω	0,51±0,05 *Δ ω	0,39±0,03 Δ#ωμ&

Примечание: * - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами (p<0,05); Δ - различия статистически значимы по сравнению с КТТ 1 сутки (p<0,05); # - различия статистически значимы по сравнению с КТТ 3 сутки (p<0,05); ω - различия статистически значимы по сравнению с контролем 1 (p<0,05); μ - различия статистически значимы по сравнению с контролем 2 (p<0,05); & - различия статистически значимы по сравнению с опытом 1 (p<0,05).

Применение физиологического раствора, насыщенного О₃, при КТТ на третьи сутки вызвало нормализацию HF и LF/HF и активацию ряда показателей спектрального анализа ВСР: TP – на 30% (p=0,015), LF – на 30% (p=0,024), VLF – в 2 раза (p<0,001) в отличие от параметров интактных крыс. Повышение TP, LF и VLF говорило об улучшении функционального состояния сердечно-сосудистой системы, активации центральных эрготропных и гуморально-метаболических механизмов регуляции сердечного ритма (табл. 14). В отличие от показателей спектрального анализа ВСР крыс с термической травмой на 3 сутки отмечено разнонаправленное

изменение ряда исследуемых параметров ВСР на 3 сутки КТТ под влиянием 0,6 мг/л О₃: снижение LF/HF – в 3,8 раза ($p<0,001$) и повышение TP на 66% ($p=0,008$), LF – в 2 раза ($p<0,001$), HF – в 8 раз ($p<0,001$).

В контроле 1 и 2 исследуемые показатели спектрального анализа ВСР статистически значимо отличались от параметров интактных крыс, что также указывало на отсутствие выраженных позитивных сдвигов в показателях спектрального анализа ВСР при использовании физиологического раствора. Показатели спектрального анализа ВСР у животных контроля 1 по сравнению с параметрами крыс с ожогом на 1 сутки без лечения были снижены для TP – в 3,9 раза ($p<0,001$), LF – на 36% ($p=0,027$), VLF – в 3,6 раза ($p<0,001$), LF/HF – на 32% ($p=0,041$). По сравнению с показателями спектрального анализа ВСР у крыс с термической травмой на 3 сутки в контроле 2 отмечено снижение TP в 8 раз ($p<0,001$), LF – в 3,9 раза ($p<0,001$), HF – на 44% ($p=0,019$), VLF – в 22 раза ($p<0,001$), LF/HF – в 2 раза ($p<0,001$).

Выявлено, что при использовании озонированного физиологического раствора происходило снижение интенсивности СРО в крови крыс, получивших КТТ, на третий день после травмы с нормализацией показателя S в плазме крови и концентрации МДА – в эритроцитах. В первый день после ожога под воздействием 0,6мг/л О₃ показатели S и МДА были выше значений интактных крыс (S в плазме – на 9% ($p=0,041$), S в эритроцитах – на 26% ($p=0,014$), МДА в плазме – в 2 раза ($p<0,001$), МДА в эритроцитах – на 27% ($p=0,034$)), но снизились в отличие от значений крыс с КТТ в первый день после травмы (S в плазме – на 4% ($p=0,071$), S в эритроцитах – на 26% ($p=0,020$), МДА в плазме – на 27% ($p=0,036$), МДА в эритроцитах – на 27% ($p=0,028$)). Введение озонированного физиологического раствора на 3 сутки после ожога вызвало снижение показателя S в плазме крови на 12% ($p=0,034$), в эритроцитах – на 29% ($p=0,007$) в отличие от значений ожоговых крыс (3 сутки) (рис. 38).

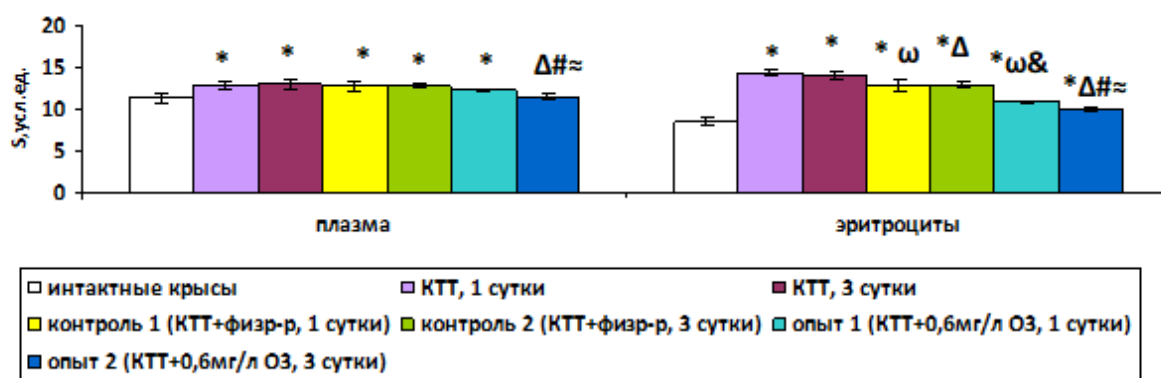


Рис. 38. Показатель S (усл.ед) в крови при термической травме в условиях применения озонированного физиологического раствора

Примечание: * - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p < 0,05$); Δ - различия статистически значимы по сравнению с 3 сутками КТТ ($p < 0,05$); # - различия статистически значимы по сравнению с контролем 3 сутки ($p < 0,05$), ω – различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ ($p < 0,05$); & - различия статистически значимы по сравнению с контролем 1 сутки ($p < 0,05$); ≈ - различия статистически значимы по сравнению с опытом 1 ($p < 0,05$).

Под влиянием физиологического раствора, содержащего О₃, на 3 сутки после термической травмы концентрация МДА в плазме снизилась на 38% ($p = 0,010$), в эритроцитах – на 32% ($p = 0,005$) в отличие от значений ожоговых крыс (третьи сутки) (рис. 39).

В контроле 1 и 2 исследуемые параметры СРО в крови крыс статистически значимо были выше параметров интактных крыс, что также указывало на отсутствие выраженных позитивных сдвигов значений S и МДА в крови (плазма и эритроциты) при использовании физиологического раствора.

Аналогичное снижение интенсивности СРО при экспериментальном ожоге на 1 и 3 сутки после травмы под влиянием озонированного физиологического раствора наблюдалось и в ткани сердца в отличие от значений ожоговых крыс на первые и третьи сутки без лечения, соответственно, но исследуемые показатели СРО на первый и третий день после ожога под воздействием 0,6мг/л О₃ остались статистически значимо выше показателей интактных крыс. Так, под влиянием физиологического раствора с растворенным в нем озоном при комбинированной термической

травме в гомогенате сердца наблюдалось на 1 сутки после ожога снижение параметра S на 19% ($p=0,031$), концентрации МДА – на 32% ($p=0,024$) в отличие от значений крыс, получивших КТТ, но без лечения (первые сутки) (рис. 40). Применение физиологического раствора, насыщенного O_3 , при КТТ вызвало в гомогенате сердца на третий день после травмы снижение S на 18% ($p=0,024$), уровня МДА – на 40% ($p=0,013$) в отличие от параметров крыс, которым нанесли КТТ, но оставшихся без лечения (третьи сутки) (рис. 40).

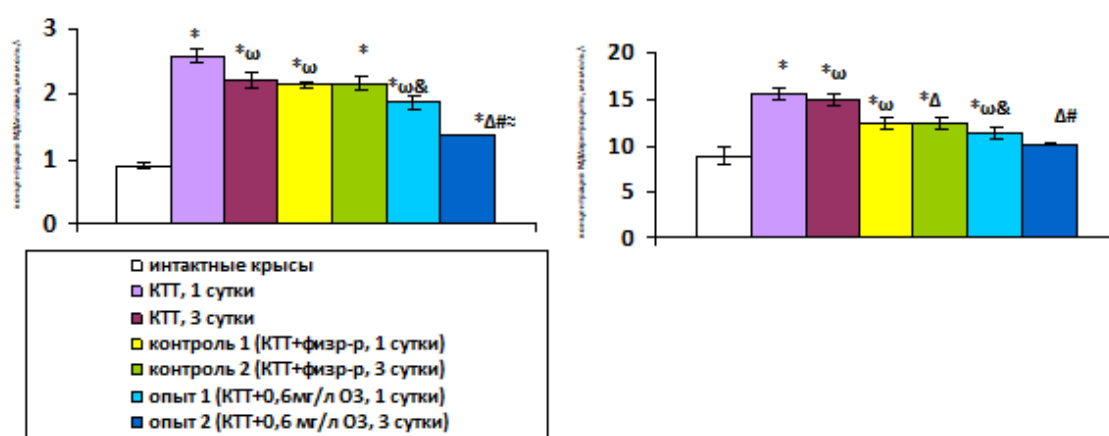


Рис. 39. Концентрация малонового диальдегида (мкмоль/л) в плазме и эритроцитах крови при термической травме в условиях применения озонированного физиологического раствора

Примечание: * - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p<0,05$); Δ - различия статистически значимы по сравнению с 3 сутками КТТ ($p<0,05$); # - различия статистически значимы по сравнению с контролем 3 сутки ($p<0,05$), ω – различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ ($p<0,05$); & - различия статистически значимы по сравнению с контролем 1 сутки ($p<0,05$); ≈ - различия статистически значимы по сравнению с опытом 1 ($p<0,05$).

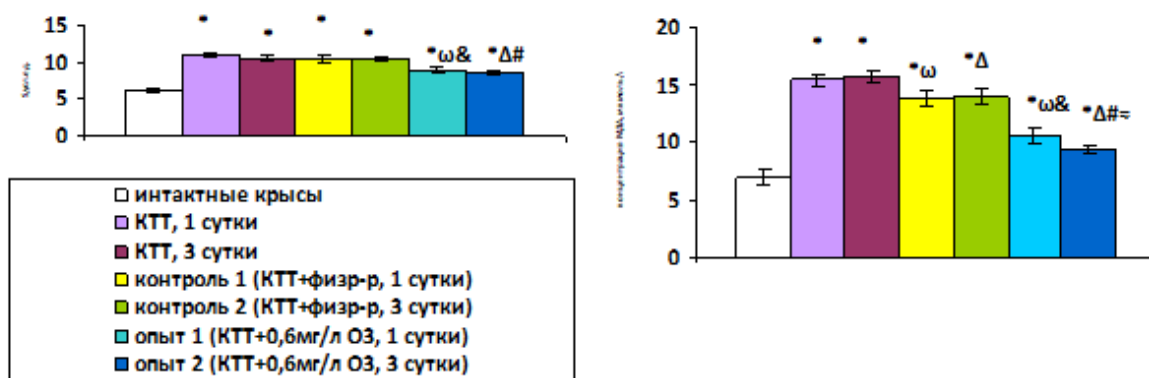


Рис. 40. Показатели СРО (показатель S (усл.ед), концентрация малонового диальдегида (мкмоль/л)) в сердце при термической травме в условиях применения озонированного физиологического раствора

Примечание: * - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p < 0,05$); Δ - различия статистически значимы по сравнению с 3 сутками КТТ ($p < 0,05$); # - различия статистически значимы по сравнению с контролем 3 сутки ($p < 0,05$), ω – различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ ($p < 0,05$); & - различия статистически значимы по сравнению с контролем 1 сутки ($p < 0,05$); ≈ - различия статистически значимы по сравнению с опытом 1 ($p < 0,05$).

В гомогенате сердца контрольных групп 1 и 2 концентрация МДА снизилась в отличие от соответствующих значений крыс с первыми и третьими сутками после нанесенной КТТ, но без лечения (на 10% ($p = 0,035$) и 12% ($p = 0,029$) соответственно), однако была выше показателя интактных крыс (на первый день – в 2 раза ($p < 0,001$) и на третий день – в 2 раза ($p < 0,001$)). Показатель S в гомогенате сердца контрольных групп 1 и 2 уменьшился в отличие от соответствующих значений у крыс в первый и третий день после ожога без лечения (на 5% ($p = 0,094$) и 3% ($p = 0,139$) соответственно), но был выше показателя интактных крыс (на 1 сутки – на 69% ($p = 0,011$) и на 3 сутки – на 70% ($p = 0,007$)).

Во 1-ой опытной группе животных с КТТ на 1 сутки, которым вводили 0,6 мг/л О₃, отмечена активация АлДГ в отличие от параметров крыс с КТТ (первые сутки) без лечения: в эритроцитах крови – на 49% ($p = 0,031$), в гомогенате сердца – на 41% ($p = 0,035$) (рис. 41). Однако, удельная активность АлДГ в первый день после КТТ под влиянием 0,6 мг/л О₃ оказалась ниже значений интактных крыс в эритроцитах на 30% ($p = 0,020$), в гомогенате

сердца – на 34% ($p=0,017$), что, вероятно, обусловлено субстратным ингибированием фермента.

Во 2-ой опытной группе животных с КТТ на 3 сутки, которым вводили 0,6 мг/л O_3 , также отмечена активация АлДГ в отличие от параметров крыс с КТТ (третьи сутки) без лечения: в эритроцитах крови – на 65% ($p<0,001$), в гомогенате сердца – на 75% ($p=0,016$) (рис. 41), следствием чего было падение концентрации МДА. Однако, удельная активность АлДГ на третий день после ожога под влиянием 0,6 мг/л O_3 оказалась ниже значений интактных крыс в эритроцитах на 20% ($p=0,019$), в гомогенате сердца – на 27% ($p=0,009$), что, вероятно, обусловлено субстратным ингибированием фермента.

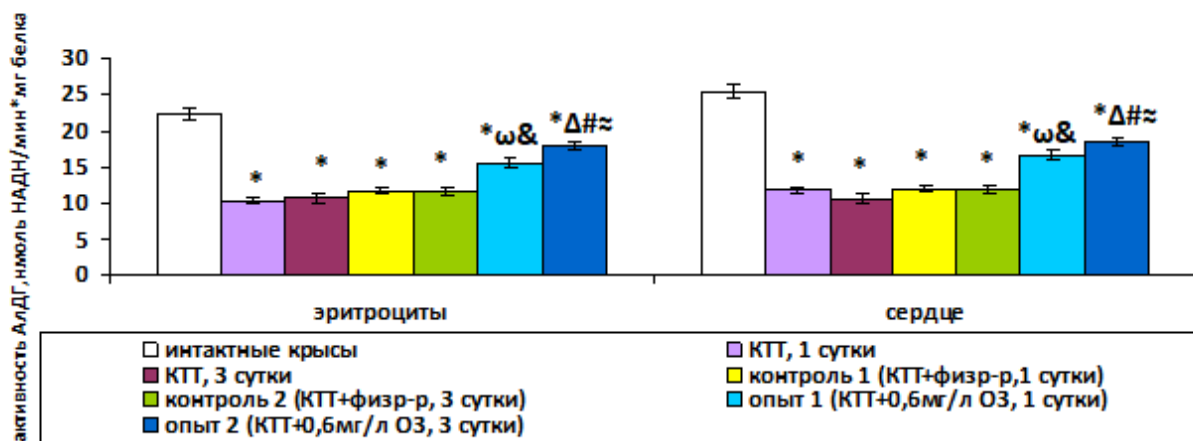


Рис. 41. Активность альдегиддегидрогеназы (нмоль НАДН/мин×мг белка) в крови и сердце крыс с комбинированной термической травмой в условиях применения озонированного физиологического раствора

Примечание: * - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p<0,05$); Δ - различия статистически значимы по сравнению с 3 сутками КТТ ($p<0,05$); # - различия статистически значимы по сравнению с контролем 3 сутки ($p<0,05$), ω – различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ ($p<0,05$); & - различия статистически значимы по сравнению с контролем 1 сутки ($p<0,05$); ≈ - различия статистически значимы по сравнению с опытом 1 ($p<0,05$).

В 1 и 2 контрольных группах крыс не наблюдалось статистически значимых различий в значениях удельной активности АлДГ на первый и третий день после ожога в отличие от параметров животных с КТТ на первый и третий день без лечения соответственно.

Выявлено нормализующее влияние озонированного физиологического раствора при КТТ (3 сутки) на антиоксидантную систему крови и сердца крыс. В 1-ой опытной группе показатели ОАА, активности каталазы и СОД были ниже значений интактных крыс: в эритроцитах – на 5% ($p=0,042$), на 33% ($p=0,028$), на 18% ($p=0,031$), в гомогенате сердца – на 15% ($p=0,039$), на 18% ($p=0,020$), на 11% ($p=0,034$), соответственно. В эритроцитах крови под влиянием 0,6 мг/л O_3 на третий день после КТТ отмечен рост удельной активности каталазы на 92% ($p<0,001$), СОД – в 2,3 раза ($p<0,001$), общей антиоксидантной активности – на 8% ($p=0,132$) в отличие от параметров крыс с КТТ (3 сутки) (рис. 42, 43).

В гомогенате сердца под влиянием 0,6 мг/л O_3 при КТТ (3 сутки) отмечен рост удельной активности каталазы на 48% ($p=0,003$), СОД – на 32% ($p=0,016$), ОАА – на 66% ($p<0,001$) в отличие от значений крыс с КТТ (3 сутки) (рис. 43, 44).

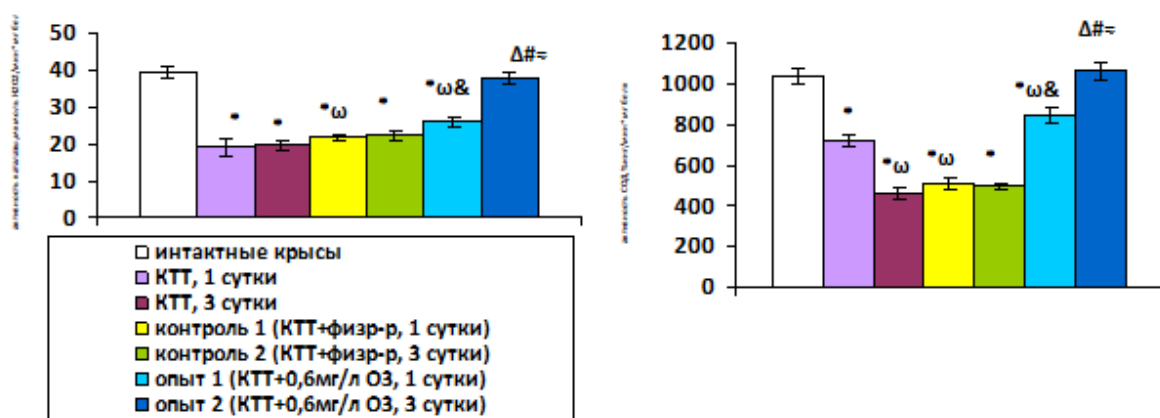


Рис. 42. Активность каталазы ($\mu\text{мольH}_2\text{O}_2/\text{мин} \times \text{мг}$ белка) и супероксиддисмутазы ($\%\text{ИНГ.}/\text{мин} \times \text{мг}$ белка) в эритроцитах крови при термической травме в условиях применения озонированного физиологического раствора

Примечание: * - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p<0,05$); Δ - различия статистически значимы по сравнению с 3 сутками КТТ ($p<0,05$); # - различия статистически значимы по сравнению с контролем 3 сутки ($p<0,05$), ω – различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ ($p<0,05$); & - различия статистически значимы по сравнению с контролем 1 сутки ($p<0,05$); ≈ - различия статистически значимы по сравнению с опытом 1 ($p<0,05$).

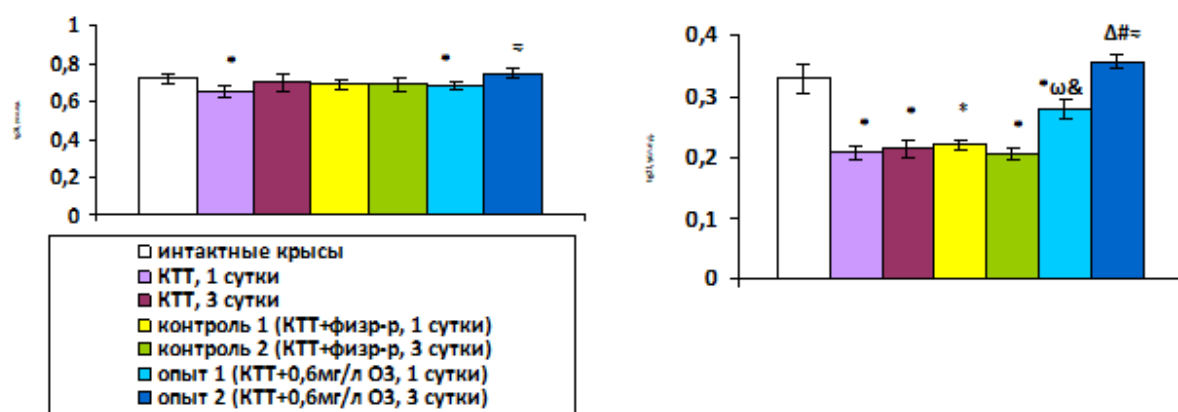


Рис. 43. Показатель $tg2\alpha$ (усл.ед.) в плазме крови и сердце при термической травме в условиях применения озонированного физиологического раствора

Примечание: * - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p<0,05$); Δ - различия статистически значимы по сравнению с 3 сутками КТТ ($p<0,05$); # - различия статистически значимы по сравнению с контролем 3 сутки ($p<0,05$), ω – различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ ($p<0,05$); & - различия статистически значимы по сравнению с контролем 1 сутки ($p<0,05$); ≈ - различия статистически значимы по сравнению с опытом 1 ($p<0,05$).

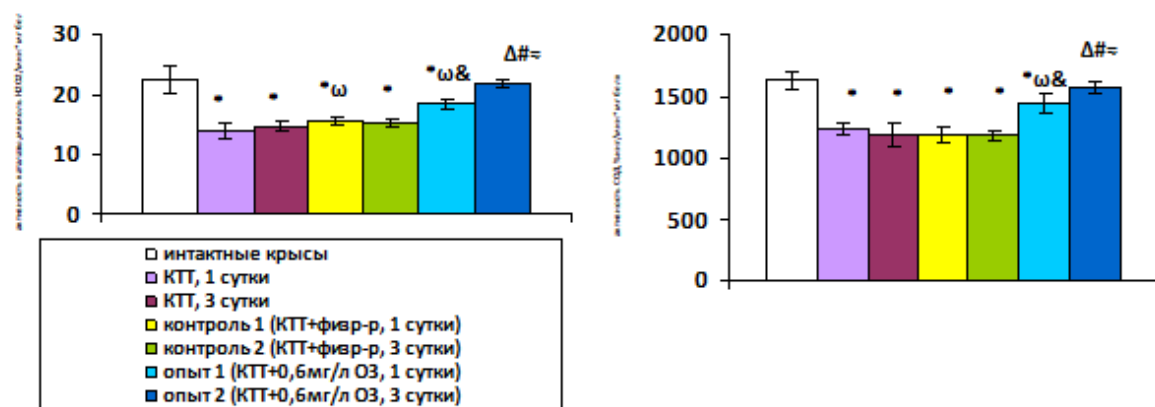


Рис. 44. Активность каталазы (мкмольН₂О₂/мин×мг белка) и супероксиддисмутазы (%инг./мин×мг белка) в сердце при термической травме в условиях применения озонированного физиологического раствора

Примечание: * - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p<0,05$); Δ - различия статистически значимы по сравнению с 3 сутками КТТ ($p<0,05$); # - различия статистически значимы по сравнению с контролем 3 сутки ($p<0,05$), ω – различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ ($p<0,05$); & - различия статистически значимы по сравнению с контролем 1 сутки ($p<0,05$); ≈ - различия статистически значимы по сравнению с опытом 1 ($p<0,05$).

В эритроцитах крови под влиянием 0,6 мг/л O_3 на 1 сутки после КТТ также отмечен рост удельной активности каталазы на 36% ($p=0,028$), СОД – на 17% ($p=0,041$), общей антиоксидантной активности – на 6% ($p=0,0972$) в отличие от значений крыс с КТТ (первые сутки) без лечения (рис. 42, 43). В ткани сердца под влиянием 0,6 мг/л O_3 при КТТ на 1 сутки отмечен рост удельной активности каталазы на 32% ($p=0,033$), СОД – на 17% ($p=0,036$), ОАА – на 34% ($p=0,040$) в отличие от параметров животных с КТТ (1 сутки) (рис. 43, 44).

Полученные результаты показали, что введение озонированного физиологического раствора при КТТ на третий день после ожога привело к нормализации уровня глюкозы в плазме и эритроцитах крови, и молочной кислоты – в плазме. В первый день после КТТ под воздействием 0,6мг/л O_3 концентрация молочной кислоты и глюкозы в плазме и эритроцитах крыс была выше значений интактных крыс (лактат в плазме – на 13% ($p=0,021$), лактат в эритроцитах – на 43% ($p=0,016$), глюкоза в плазме – на 21% ($p=0,034$), глюкоза в эритроцитах – на 50% ($p=0,009$)), но снизились в отличие от параметров крыс, получивших КТТ, на первые сутки после травмы без лечения (лактат в эритроцитах – на 9% ($p=0,040$), глюкоза в плазме – на 13% ($p=0,037$), глюкоза в эритроцитах – на 32% ($p=0,029$)).

Под влиянием 0,6 мг/л O_3 при КТТ (3 сутки) концентрация глюкозы уменьшилась в плазме крови на 35% ($p=0,015$), в эритроцитах – в 2 раза ($p<0,001$) в отличие от значений крыс с КТТ (третий день) без лечения (рис. 45). Под влиянием 0,6 мг/л O_3 при КТТ (3 сутки) концентрация лактата снизилась в плазме крови на 12% ($p=0,036$), в эритроцитах – на 29% ($p=0,018$) в отличие от параметров крыс с КТТ (3 сутки) (рис. 46).

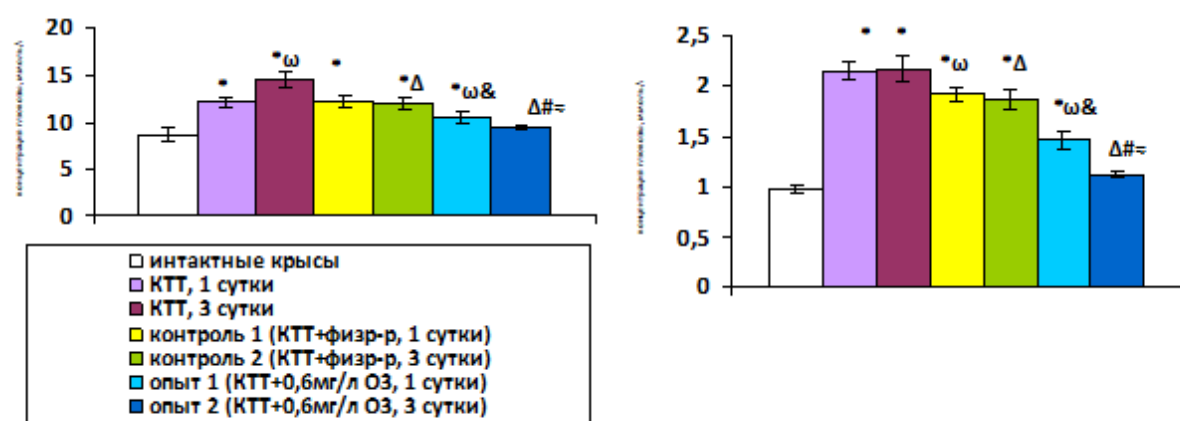


Рис. 45. Концентрация глюкозы (ммоль/л) в плазме и эритроцитах крови при термической травме в условиях применения озонированного физиологического раствора

Примечание: * - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p < 0,05$); Δ - различия статистически значимы по сравнению с 3 сутками КТТ ($p < 0,05$); # - различия статистически значимы по сравнению с контролем 3 сутки ($p < 0,05$), ω – различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ ($p < 0,05$); & - различия статистически значимы по сравнению с контролем 1 сутки ($p < 0,05$); ≈ - различия статистически значимы по сравнению с опытом 1 ($p < 0,05$).

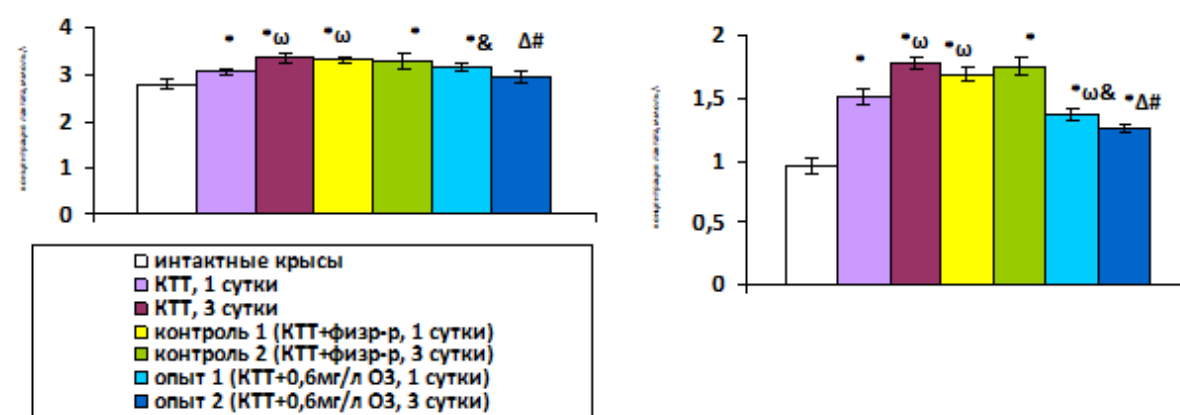


Рис. 46. Концентрация лактата (ммоль/л) в плазме и эритроцитах крови при термической травме в условиях применения озонированного физиологического раствора

Примечание: * - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p < 0,05$); Δ - различия статистически значимы по сравнению с 3 сутками КТТ ($p < 0,05$); # - различия статистически значимы по сравнению с контролем 3 сутки ($p < 0,05$), ω – различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ ($p < 0,05$); & - различия статистически значимы по сравнению с контролем 1 сутки ($p < 0,05$); ≈ - различия статистически значимы по сравнению с опытом 1 ($p < 0,05$).

Таким образом, введение озонированного физиологического раствора на 3 сутки после КТТ вызвало нормализацию уровня субстратов энергетического метаболизма в крови.

У животных с КТТ, которым вводили 0,6 мг/л O_3 (опыт 1), на 1 сутки после ожога отмечено повышение активности ЛДГпр (в 2 раза ($p<0,001$)) и ЛДГобр (на 29% ($p=0,015$)) в эритроцитах в отличие от параметров крыс с КТТ (первые сутки) без лечения. При этом удельная активность ЛДГ эритроцитов крови при КТТ (1 сутки) под влиянием 0,6 мг/л O_3 оказалась ниже значений интактных крыс: ЛДГпр – на 30% ($p=0,020$), ЛДГобр – на 26% ($p=0,033$).

У животных с КТТ, которым вводили 0,6 мг/л O_3 (опыт 2), на 3 сутки после ожога отмечена активация ЛДГпр и ЛДГобр в эритроцитах крови в отличие от параметров крыс с КТТ (третьи сутки) без лечения: под влиянием физиологического раствора, барботированного озоном, на третьи сутки после КТТ в эритроцитах крови удельная активность ЛДГпр возросла в 2,2 раза ($p<0,001$), ЛДГобр – на 51% ($p=0,006$) (рис. 47). Однако удельная активность ЛДГ эритроцитов крови при КТТ (3 сутки) под влиянием 0,6 мг/л O_3 оказалась ниже значений интактных крыс: ЛДГпр – на 14% ($p=0,025$), ЛДГобр – на 11% ($p=0,041$).

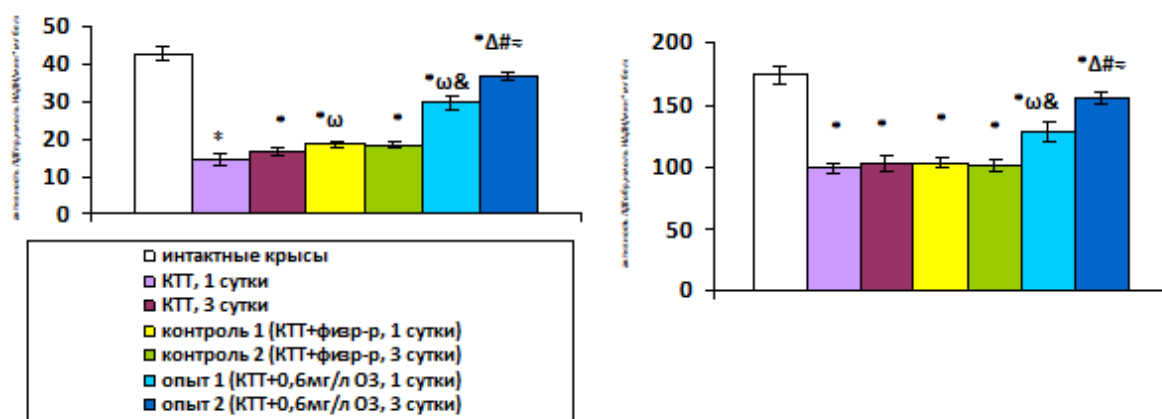


Рис. 47. Активность лактатдегидрогеназы в прямой и обратной реакции (нмоль НАДН/мин×мг белка) в эритроцитах крови при термической травме в условиях применения озонированного физиологического раствора

Примечание: * - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p < 0,05$); Δ - различия статистически значимы по сравнению с 3 сутками КТТ ($p < 0,05$); # - различия статистически значимы по сравнению с контролем 3 сутки ($p < 0,05$), ω – различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ ($p < 0,05$); & - различия статистически значимы по сравнению с контролем 1 сутки ($p < 0,05$); ≈ - различия статистически значимы по сравнению с опытом 1 ($p < 0,05$).

Показано, что в гомогенате сердца животных 2-ой опытной группы с КТТ, которым вводили 0,6 мг/л О₃, активность ЛДГпр и ЛДГобр нормализовалась. В 1-ой опытной группе активность ЛДГобр в гомогенате сердца нормализовалась, активность ЛДГпр была ниже показателя интактных крыс на 10% ($p = 0,036$). Под влиянием озонированного физиологического раствора при КТТ (3 сутки) в гомогенате сердца удельная активность ЛДГпр возросла на 34% ($p = 0,017$), ЛДГобр – на 10% ($p = 0,036$) в отличие от параметров крыс с КТТ (третьи сутки). У крыс опыта 1 в гомогенате сердца удельная активность ЛДГ возросла в отличие от значений крыс с КТТ (первый день) без лечения: ЛДГпр – на 26% ($p = 0,017$), ЛДГобр – на 12% ($p = 0,028$) (рис. 48).

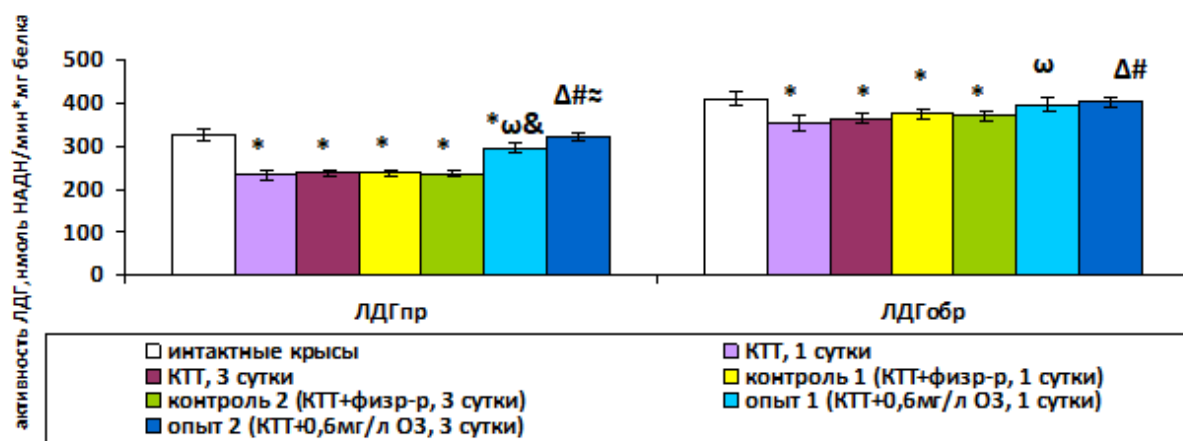


Рис. 48. Активность лактатдегидрогеназы (нмоль НАДН/мин×мг белка) в гомогенате сердца при термической травме в условиях применения озонированного физиологического раствора

Примечание: * - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p < 0,05$); Δ - различия статистически значимы по сравнению с 3 сутками КТТ ($p < 0,05$); # - различия статистически значимы по сравнению с контролем 3 сутки ($p < 0,05$); ω – различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ ($p < 0,05$); & - различия статистически значимы по сравнению с контролем 1 сутки ($p < 0,05$); ≈ - различия статистически значимы по сравнению с опытом 1 ($p < 0,05$).

Расчет КБЭР выявил его нормализацию в эритроцитах крови и гомогенате сердца на третий день после ожога под влиянием 0,6 мг/л О₃. На 1 сутки после КТТ под влиянием 0,6 мг/л О₃ КБЭР был ниже показателей интактных крыс в эритроцитах на 12% ($p = 0,037$), в гомогенате сердца – на 11% ($p = 0,042$), но возрос по сравнению с параметрами крыс с ожогом на 1 сутки без лечения в эритроцитах в 2,5 раза ($p < 0,001$), в ткани сердца – на 27% ($p = 0,023$). КБЭР повысился на 3 сутки после КТТ под воздействием 0,6 мг/л О₃ в эритроцитах крови – в 2 раза ($p < 0,001$), в ткани сердца – на 42% ($p = 0,019$) в отличие от значений крыс с КТТ (третьи сутки), что вызвало снижение содержания молочной кислоты (табл. 15).

**Коэффициент баланса энергетических реакций
в крови и сердце крыс с комбинированной термической травмой в условиях
применения озонированного физиологического раствора**

Объект исследования	Условия эксперимента	КБЭР
Кровь	Интактные крысы	6,04±0,25
	КТТ, 1 сутки	2,16±0,09*
	КТТ, 3 сутки	2,88±0,11*ω
	Контроль 1 (КТТ+физ.р-р, 1 сутки)	3,24±0,08*ω
	Контроль 2 (КТТ+физ.р-р, 3 сутки)	3,32±0,12*Δ
	Опыт 1 (КТТ+0,6 мг/л О ₃ , 1 сутки)	5,32±0,14*ω&
	Опыт 2 (КТТ+0,6 мг/л О ₃ , 3 сутки)	5,67±0,31Δ#
Гомогенат сердца	Интактные крысы	63,19±2,03
	КТТ, 1 сутки	43,99±1,23*
	КТТ, 3 сутки	45,02±2,01*
	Контроль 1 (КТТ+физ.р-р, 1 сутки)	40,76±1,11*
	Контроль 2 (КТТ+физ.р-р, 3 сутки)	41,32±1,97*
	Опыт 1 (КТТ+0,6 мг/л О ₃ , 1 сутки)	55,97±1,28*ω&
	Опыт 2 (КТТ+0,6 мг/л О ₃ , 3 сутки)	63,74±3,06Δ#≈

Примечание: * - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p<0,05$); Δ - различия статистически значимы по сравнению с 3 сутками КТТ ($p<0,05$); # - различия статистически значимы по сравнению с контролем 3 сутки ($p<0,05$), ω – различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ ($p<0,05$); & - различия статистически значимы по сравнению с контролем 1 сутки ($p<0,05$); ≈ - различия статистически значимы по сравнению с опытом 1 ($p<0,05$).

3.4. Результаты корреляционного анализа между показателями микроциркуляции, вариабельности сердечного ритма и биохимическими параметрами при комбинированной термической травме и в условиях воздействия озонированного физиологического раствора

В данной работе был проведен корреляционный анализ для выявления зависимости параметров микроциркуляции (ПМ, ПШ, Э, Н, М, С, Д) от показателей оксидативного стресса (ОАА, S, МДА, СОД, каталаза, АлДГ) и энергетического метаболизма (глюкоза, лактат, ЛДГ), показателей ВСР (ЧСС, Мода, АМо, вариационный размах, ПАПР, ИН, SDNN, RMSSD, CV, pNN5, ИВР, ВПР, TP, LF, HF, VLF) от показателей оксидативного стресса (ОАА, S, МДА, СОД, каталаза, АлДГ) и энергетического метаболизма (глюкоза, лактат,

ЛДГ), а также показателей микроциркуляции (ПМ, ПШ, Э, Н, М, Д, С) от показателей ВСР (ЧСС, Мода, АМо, вариационный размах, ПАПР, ИН, SDNN, RMSSD, CV, рNN5, ИВР, ВПР, ТР, LF, HF, VLF) на первый и третий день после ожога без лечения и под влиянием 0,6мг/л О₃ (табл. 16).

Таблица 16

Взаимосвязь функциональных и биохимических показателей крови и сердца при комбинированной термической травме и при воздействии озона

Условия эксперимента	Взаимосвязанные показатели	r	p
КТТ, 1 сутки	ПМ и ПАПР	-0,547	0,021
	ПШ и ИН	-0,761	0,015
	ПМ и Вариационный размах	0,831	0,012
	ПМ и ТР	0,927	0,005
	LF и ПШ	0,783	0,029
	ВПР и С	0,904	0,010
	ИН и М	0,695	0,038
	ИВР и Д	0,862	0,016
	ПМ и S (плазма)	- 0,745	0,005
	ПМ и каталаза (эритроциты)	0,803	0,010
	ПМ и АлДГ (эритроциты)	0,667	0,029
	М и лактат (плазма)	0,732	0,034
	М и лактат (эритроциты)	0,814	0,027
	С и ЛДГпр (сердце)	-0,902	0,003
	С и СОД (сердце)	-0,763	0,026
	Д и глюкоза (эритроциты)	0,699	0,015
	ИН и МДА (плазма)	0,727	0,018
	ИВР и S (плазма)	0,741	0,009
	CV и лактат (эритроциты)	0,832	0,012
	ТР и АлДГ (эритроциты)	0,609	0,036
	ЧСС и лактат (плазма)	0,772	0,025
КТТ, 3 сутки	Вариационный размах и ПМ	0,918	0,004
	LF и ПШ	0,753	0,031
	ВПР и М	0,920	0,003
	ИН и С	0,836	0,010
	ТР и М	-0,774	0,018
	ИВР и Д	0,825	0,017
	ИН и S (плазма)	0,837	0,011
	ИВР и МДА (эритроциты)	0,761	0,023
	ВПР и СОД (эритроциты)	-0,824	0,015
	ВПР и каталаза (эритроциты)	-0,736	0,029
	RMSSD и АлДГ (эритроциты)	0,798	0,015
	ПАПР и СОД (эритроциты)	-0,751	0,017
	ПАПР и лактат (эритроциты)	0,688	0,029
	ПАПР и лактат (плазма)	0,754	0,012
	ВПР и глюкоза (эритроциты)	0,816	0,008

	VLF и ЛДГ пр (эритроциты)	-0,712	0,007
	Вариационный размах и ЛДГобр (эритроциты)	1,000	<0,001
	ПМ и СОД (эритроциты)	0,765	0,022
	ПМ и каталаза (эритроциты)	0,712	0,005
	ПШ и АлДГ (эритроциты)	0,673	0,016
	ПШ и СОД (эритроциты)	1,000	<0,001
	ПМ и S (плазма)	-0,684	0,027
	С и МДА (сердце)	0,753	0,014
	М и ЛДГ пр (сердце)	-0,999	<0,001
	ПМ и лактат (плазма)	-0,867	0,011
	ПМ и АлДГ (сердце)	0,925	0,010
Опыт 1 (КТТ, 0,6мг/л О ₂ ; 1 сутки)	ПМ и вариационный размах	0,936	0,002
	Д и ИВР	0,972	0,004
	ПМ и ИН	-0,845	0,013
	М и SDNN	-0,891	0,008
	ПМ и S (плазма)	-0,807	0,005
	ПМ и лактат (эритроциты)	-0,953	0,001
	ПМ и ЛДГ пр (эритроциты)	0,847	0,013
	С и МДА (сердце)	0,898	0,011
	С и S (сердце)	0,772	0,014
	ПАПР и S (плазма)	0,955	0,002
	ПАПР и S (эритроциты)	0,754	0,021
	ИН и МДА (плазма)	0,891	0,003
	ИН и S (эритроциты)	0,906	0,001
	ИВР и S (эритроциты)	0,815	0,016
	ВПР и СОД (эритроциты)	-0,926	0,001
	ТР и АлДГ (эритроциты)	-0,776	0,005
	Вариационный размах и ЛДГобр (эритроциты)	0,813	0,027
Опыт 2 (КТТ, 0,6мг/л О ₂ ; 3 сутки)	ИН и С	0,865	0,013
	ИВР и Д	0,976	0,002
	ИН и S (эритроциты)	0,748	0,018
	ИВР и МДА (плазма)	0,868	0,019
	RMSSD и АлДГ (эритроциты)	0,835	0,011
	ТР и S (эритроциты)	0,891	0,013
	ИН и АлДГ (эритроциты)	-0,947	0,001
	ИН и лактат (эритроциты)	0,855	0,014
	VLF и ЛДГ пр (эритроциты)	-0,798	0,017
	С и МДА (сердце)	0,996	<0,001
	С и АлДГ (сердце)	-0,863	0,009

В первый день после КТТ выявлена отрицательная корреляция между ПМ и ПАПР, ПШ и ИН, а также прямая корреляция между ПМ и вариационным размахом, ПМ и ТР, LF и ПШ, ВПР и С, ИН и М, ИВР и Д. Выявленные изменения показателей ВСР и микроциркуляции на 1 сутки после КТТ зависели от окислительного и энергетического метаболизма органов и тканей. На 1 сутки после ожога отмечена обратная корреляция между ПМ и показателем S в плазме крови и положительная корреляция

между ПМ и активностью каталазы эритроцитов, ПМ и активностью АлДГ эритроцитов, миогенным фактором регуляции микрокровотока и концентрацией лактата в плазме и эритроцитах крови, дыхательным фактором регуляции микрокровотока и концентрацией глюкозы эритроцитов, между показателями ВСР (ИН, ИВР, CV, TP, ЧСС) и показателями окислительного (МДА, S, АлДГ) и энергетического метаболизма (концентрация лактата) крови. Наличие взаимосвязи между CV и лактатом, ЧСС и лактатом свидетельствует о зависимости показателей ВСР от гипоксии, сопровождающейся повышением клеточного анаэробного гликолиза, развитием ацидоза из-за роста концентрации лактата (Костина и др., 2012).

В ткани сердца в первый день после КТТ обнаружена обратная корреляция пассивного фактора регуляции микрокровотока (C) от активности СОД и ЛДГпр, то есть взаимосвязь микроциркуляции в сердечной ткани от гипоксии и окислительного стресса.

На 3 сутки после ожога также выявлена взаимосвязь между показателями ВСР и микроциркуляции: положительная корреляция между вариационным размахом и ПМ, LF и ПШ, ВПР и М, ИН и С, ИВР и Д, но отрицательная корреляция между TP и М. Выявленные изменения функциональных показателей на 3 сутки после КТТ обусловлены развитием окислительного стресса и нарушением энергетического метаболизма. На 3 сутки после экспериментального ожога выявлена положительная корреляция между ИН и S плазмы, ИВР и МДА плазмы, RMSSD АлДГ эритроцитов, ПАПР и концентрацией лактата в плазме и эритроцитах, ВПР и концентрацией глюкозы эритроцитов, вариационным размахом и ЛДГобр эритроцитов, ПМ и активностями СОД, каталазы эритроцитов, ПШ и активностями СОД и АлДГ эритроцитов, С и МДА в сердце, ПМ и АлДГ в сердце и обратная корреляция между: ВПР и СОД, каталаза эритроцитов; ПАПР и СОД эритроцитов; VLF и ЛДГпр эритроцитов; ПМ и S плазмы; М и ЛДГпр сердца; ПМ и лактат плазмы.

В условиях воздействия озонированного (0,6 мг/л O₃)

физиологического раствора в первый день после ожога анализ взаимосвязей функционально-биохимических показателей также выявил наличие прямой корреляции между ПМ и вариационным размахом, пассивным фактором регуляции микрокровотока (Д) и ИВР, а также обратной корреляции между ПМ и ИН, миогенными колебаниями микрокровотока (М) и SDNN. При этом показатели ВСР и микроциркуляции обусловлены изменением параметров окислительного и энергетического метаболизма. На 1 сутки после КТТ под воздействием 0,6мг/л О₃ обнаружена прямая (ПМ – ЛДГпр эритроцитов; фактор С – МДА в сердце; фактор С – S в сердце; ПАПР – S плазмы; ПАПР – S эритроцитов; ИН – МДА плазмы; ИН – S эритроцитов; ИВР – S эритроцитов, вариационный размах – ЛДГобр эритроцитов) и обратная (ПМ – S плазмы; ПМ – лактат эритроцитов; ВПР – СОД эритроцитов; ТР – АлДГ) корреляция между исследуемыми параметрами.

Корреляционный анализ между показателями микроциркуляции, окислительного и энергетического метаболизма, вариабельности сердечного ритма комбинированной термической травме под влиянием физиологического раствора с концентрацией О₃ в нем 0,6мг/л на третий день после травмы выявил положительную корреляцию между следующими параметрами: ИН и фактор микроциркуляции С; ИВР и фактор микроциркуляции Д; ИН и S эритроцитов; ИВР и МДА плазмы, RMSSD и АлДГ эритроцитов, ТР и S эритроцитов; ИН и лактат эритроцитов; фактором микроциркуляции С и МДА сердца; а также отрицательную корреляцию между показателями: ИН и АлДГ эритроцитов; VLF и ЛДГпр эритроцитов; фактор микроциркуляции С и АлДГ сердца.

Наличие взаимосвязей между показателями микроциркуляции и окислительного метаболизма в крови и сердце при КТТ свидетельствует о влиянии АФК, повышающихся при ожоге и вызывающих развитие ОС, на сердечно-сосудистую систему. Известно, что развитие многих заболеваний сердечно-сосудистой системы связано с увеличенной продукцией АФК, которые участвуют в регуляции тонуса кровеносных сосудов. Главными

продуцентами АФК в клетках кровеносных сосудов являются NADPH-оксидазы, супероксиддисмутазы и электрон-транспортная цепь митохондрий. АФК способны вызывать как сокращение, так и расслабление сосудов. В основе разнонаправленного воздействия АФК на тонус сосудов лежит их воздействие на мишени, расположенные в эндотелии и гладкомышечных клетках (ГМК) (Knock, 2019). Под влиянием АФК происходит уменьшение образования NO в эндотелии: в результате взаимодействия O_2^- с NO образуется пероксинитрит ($ONOO^-$), ингибирующий эндотелиальную NO-синтазу (eNOS), окисляя тетрагидробиоптерин, необходимый для ее димеризации (Tejero et al., 2019). Заингибированная eNOS образует меньше вазодилатирующего NO, но больше O_2^- , в результате эндотелий-зависимое расслабление становится менее выраженным (Швецова и др., 2023; Vanin, Chazov, 2011; Brown, Griendling, 2015), чем и обусловлено просократительное воздействие активных форм кислорода. Кроме того, АФК, главным образом, H_2O_2 , участвуют в эндотелий-зависимом расслаблении путем активации фосфолипазы A_2 и высвобождения арахидоновой кислоты с участием циклооксигеназы посредством дилатации легочных сосудов (Михальчик, 2006).

Влияя на ГМК, АФК могут приводить к накоплению внутриклеточной концентрации кальция и впоследствии к сокращению, активируя потенциал-управляемые кальциевые каналы L-типа или неселективные катионные каналы TRPC (Ding et al., 2011), или повышая чувствительность IP3-рецепторов саркоплазматического ретикулума к IP3 (инозитол-3-фосфат), а также снижая активность потенциал-управляемых калиевых каналов (Tural et al., 2017). Способствовать к сокращению под влиянием АФК также может быть опосредована сигнальными путями, на которые они влияют и активность которых не зависит от внутриклеточной концентрации кальция: пути MAP-киназ, Rho-киназы, Src-киназы (Швецова и др., 2023; Yu et al., 2014; 2018). АФК способны активировать протеинкиназу G, чем объясняется их вазорелаксирующее действие. Протеинкиназа G, в свою очередь,

фосфорилирует множество мишеней в ГМК, например, калиевые каналы (Швецова и др., 2023).

Таким образом, особенности вазомоторного влияния АФК определяются множеством факторов, включая структурированность сосуда (его диаметр и порядок ветвления), концентрацию АФК и место образования их в клетке. Возможно, при КТТ возникает «оксидантный тонус» периферических сосудов вследствие развития гипоксия, при которой в сосудах генерируются в больших количествах АФК, препятствующие биодоступности продуцируемого эндотелием NO и формирующие основные уровни периферического сопротивления (Швецова и др., 2023).

Наличие взаимосвязей между показателями микроциркуляции и окислительного метаболизма в крови и сердце при КТТ под влиянием озонированного физиологического раствора указывает на роль в регуляции гемодинамики АФК, которые даже в небольших концентрациях участвуют в регуляции формирования и созревания сосудистой системы, оказывая влияние на процессы пролиферации, роста и дифференцировки эндотелиальных клеток и ГМК, а также регулируя процессы ангиогенеза, дифференцировку ГМК в сократительный фенотип (Швецова и др., 2023).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, изучение особенностей функционирования микроциркуляторного русла и вариабельности сердечного ритма, а также окислительного и энергетического метаболизма в условиях длительного применения озона в эксперименте показало наличие его дозозависимого эффекта.

30-дневное применение физиологического раствора, насыщенного озоном, вызвало нарушение баланса регуляторных факторов микроциркуляции. При воздействии 0,6мг/л O_3 это выразилось в ингибировании эндотелиального и нейрогенного факторов регуляции, снижении ПШ на фоне активации сердечного фактора регуляции, что свидетельствовало об отсутствии ишемии тканей. Озонированный физиологический раствор с концентрацией O_3 в нем 2мг/л в условиях длительного применения привел к венозной гиперемии, характеризующейся увеличением амплитуды дыхательного ритма. Под влиянием 2мг/л O_3 отмечено снижение активных факторов регуляции (эндотелиального и нейрогенного) на фоне активации пассивных факторов регуляции микроциркуляции (дыхательного и сердечного).

Под влиянием 8мг/л O_3 отмечалось ингибирование пассивных (дыхательного и сердечного) и активных (нейрогенного и миогенного) факторов регуляции. Миогенный тонус определяется мышечным тонусом прекапиллярных сфинктеров, под контролем которых кровь поступает в капилляры микроциркуляторного русла. Нейрогенный тонус находится под влиянием симпатической нервной системы с участием адренорецепторов артериол. При длительном применении 8мг/л O_3 гипоперфузия тканей (низкий показатель ПМ) и сброс крови по артериоло-венулярным анастомозам, вследствие шунтирования крови, свидетельствует об ишемии тканей. В результате ПШ (соотношение миогенного и нейрогенного тонуса), отражающий степень шунтирования кровотока и ишемию ткани, был повышен при воздействии 8мг/л O_3 .

Установлено, что при длительном воздействии озонированного физиологического раствора превалирующим звеном в вегетативной регуляции является активация симпатического отдела и ослабление деятельности парасимпатического звена, которые развиваются вследствие гемодинамических нарушений. Наиболее выражены данные изменения под воздействием высоких концентраций озона (2мг/л и 8мг/л O_3), что обусловлено ростом АМо на фоне возрастания ЧСС, ИН, ИВР, ПАПР и ВПР.

При хроническом воздействии физиологического раствора, содержащего различные концентрации озона, выявлены сдвиги показателей энергетического и окислительного метаболизма: под воздействием 0,6мг/л O_3 выявлены активация антиоксидантной системы (рост активности СОД, каталазы и ОАА), рост перекисной резистентности мембран эритроцитов (снижение интенсивности ПОЛ и концентрации МДА), гипергликемия и лактатацидоз; при использовании 2 мг/л O_3 наблюдались лактатацидоз, гипергликемия, интенсификация СРО, компенсаторная активация СОД и каталазы, повышение перекисной резистентности мембран эритроцитов; при применении 8 мг/л O_3 также наблюдались лактатацидоз, гипергликемия, интенсификация СРО и повышение перекисной резистентности мембран эритроцитов.

Функционально-биохимические механизмы развития ожогового шока и эффекты воздействия озона можно представить в виде схемы (рис. 49). При КТТ вследствие повреждения тканей на клеточном, органном и системном уровнях наблюдался дисбаланс между функционально-биохимическими показателями, проявляющийся в развитии стресс-реакции, снижении объема циркулирующей крови, возникновении тканевой гипоксии, ОС и метаболических нарушений, следствием чего явилась, в частности, сердечная недостаточность. Подтверждением этому послужил корреляционный анализ, который выполнен у крыс с КТТ и который выявил различные взаимосвязи между параметрами микроциркуляции, оксидативного стресса и энергетического метаболизма, показателями ВСР.

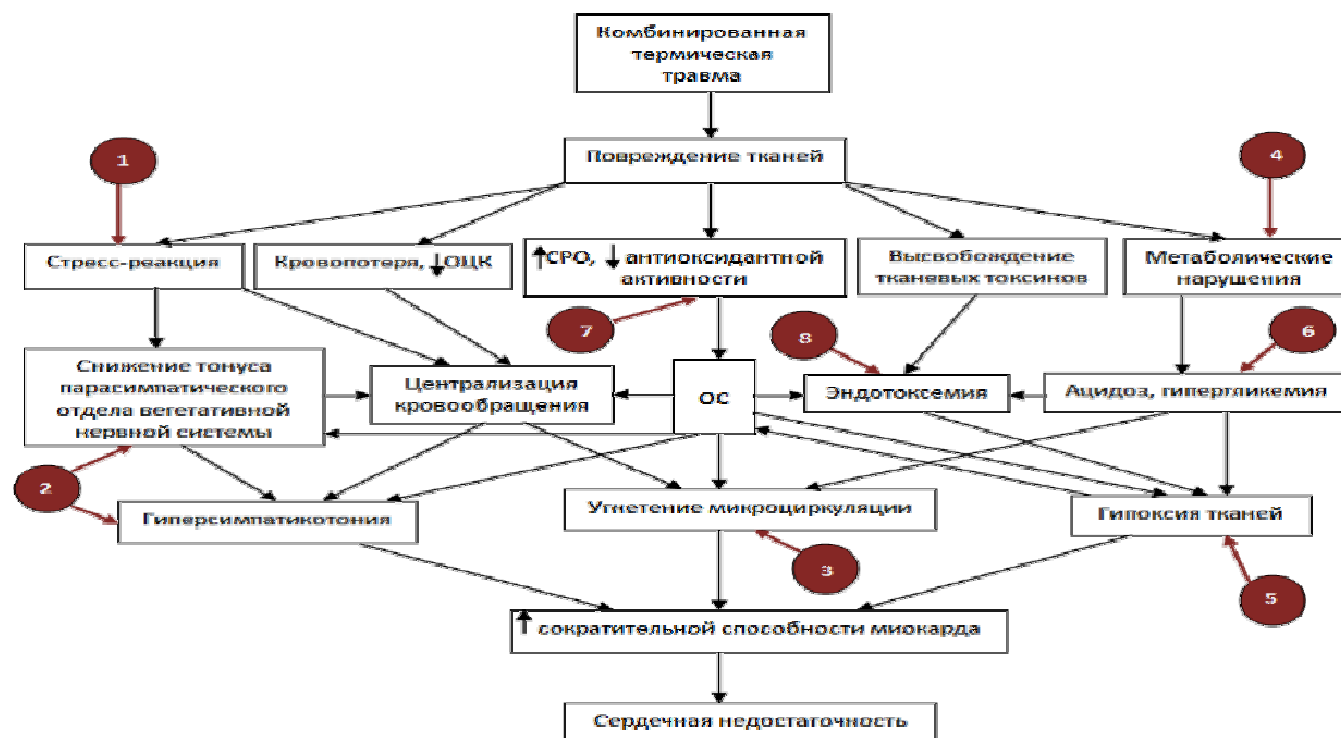


Рис. 49. Функционально-биохимические механизмы развития ожоговой болезни в ранний период (1-3 сутки) и эффекты воздействия озонированного физиологического раствора (1 – стресс-лимитирующий, 2 – гомеостатический (нивелирующий вегетативное расстройство), 3 – вазомоторный (улучшающий микроциркуляцию), 4 – энергостимулирующий (повышение КБЭР), 5 – антигипоксический (снижение концентрации лактата), 6 – гипогликемический (снижение концентрации глюкозы), 7 – антиоксидантный (повышение активности СОД, каталазы, снижение СРО), 8 – детоксикационный).

Анализ вариационной пульсометрии выявил значительное перенапряжение системы вегетативной регуляции сердечного ритма у крыс на первые сутки после ожога, приведшее к нарушению соотношения между парасимпатическим и симпатическим отделами ВНС, проявившемуся в преобладании симпатического отдела вегетативной регуляции и ингибировании парасимпатического отдела и приведшему к снижению адаптационных возможностей организма. На третьи сутки после ожога часть показателей нормализовалась (ЧСС, Мо_д, АМо, вариационный размах), однако все еще преобладало смещение вегетативного баланса в сторону симпатического отдела.

Спектральный анализ ВСР выявил статистически значимое снижение всех исследуемых показателей на 1 сутки после КТТ, что также свидетельствовало о снижении адаптационных свойств ССС, уменьшении стрессоустойчивости организма. По оценке динамики изменений вариабельности сердечного ритма в частотной области у крыс на 3-и сутки после травмы установлено, что вариабельность сердечного ритма опосредована через нейрогуморальные влияния (симпатические и парасимпатические), которые остались сниженными (TP, HF, LF).

Таким образом, в ранний период ожоговой болезни выявлены нарушения гомеостаза за счет роста симпатического воздействия на ССС в результате выраженного нарушения между отделами вегетативной нервной системы.

Полученные результаты выявили усиление СРО при одновременном ингибировании АОС в ранний период после КТТ, что привело к развитию окислительного и карбонильного стресса.

В ходе проведенного исследования выявлены следующие эффекты озонированного физиологического раствора при его применении в ранний период ожоговой болезни: стресс-лимитирующий, гомеостатический (оказывающий влияние на вегетативное расстройство), вазомоторный (улучшающий микроциркуляцию), энергостимулирующий (повышение

КБЭР), антигипоксический (снижение концентрации лактата), гипогликемический (снижение концентрации глюкозы), антиоксидантный (повышение активности СОД, каталазы и снижение СРО), детоксикационный (снижение концентрации МДА, рост активности АлДГ). Действие озона при КТТ, вероятно, опосредовано его влиянием на про-антиоксидантный баланс организма, на что указывает наличие взаимосвязи между параметрами микроциркуляции и ВСР с показателями оксидативного стресса (ОАА, S, МДА, СОД, каталаза, АлДГ) и энергетического метаболизма (глюкоза, лактат, ЛДГ).

Проведенное исследование показало, что раннее применение АФК в виде озонированного физиологического раствора в период ожогового шока способствовало повышению адаптационных возможностей организма, проявляющемуся в восстановлении периферического кровообращения, возрастании микрокровотока, нормализации ряда показателей микроциркуляции, ВСР и окислительного и энергетического метаболизма уже к третьим суткам после ожоговой травмы, по-видимому, за счёт оптимизации физиологических потребностей тканей, увеличения энергетического потенциала на клеточном уровне, что обеспечивает более физиологический путь компенсации патологических процессов в раннем периоде ожоговой болезни.

ВЫВОДЫ

1. Выявлен дозозависимый эффект действия озона на функционально-биохимический профиль на системном (организм), тканевом (кровь) и клеточном (эритроциты) уровнях в условиях длительного применения озонированного физиологического раствора.

2. В условиях хронического эксперимента установлена оптимальная для физиологического функционирования организма концентрация озона в озонированном физиологическом растворе – 0,6 мг/л O_3 , обладающая выраженным антиоксидантным действием (активация СОД (на 17% ($p=0,032$)), каталазы (на 40% ($p=0,013$)), ОАА (на 23% ($p=0,011$)), АлДГ (на 30% ($p=0,027$)), перекисной резистентности мембран эритроцитов).

3. При длительном применении озонированного физиологического раствора высокие концентрации O_3 в нем (2мг/л O_3 и 8мг/л O_3) приводили к снижению активности парасимпатического отдела ВНС, лактатацидозу и гипергликемии в плазме и эритроцитах крови, деэнергизации эритроцитов (снижение КБЭР), снижению ОАА и удельной активности АлДГ, росту свободнорадикального окисления в плазме крови, снижению ПМ под влиянием 8 мг/л O_3 .

4. Впервые получен комплекс функционально-биохимических данных, характеризующих состояние микроциркуляции, ВСР, окислительный и энергетический метаболизм при ожоговом шоке: угнетение микроциркуляции, гиперсимпатикотония, окислительный стресс, эндотоксемия, ацидоз, гипергликемия, гипоксия тканей на 1, 3 сутки после КТТ.

5. Установлена статистически значимая ($p<0,05$) взаимосвязь между показателями микроциркуляции, ВСР и параметрами окислительного и энергетического метаболизма, необходимыми для мониторинга эффективного лечения КТТ и определена вероятность их участия в формировании сердечной недостаточности.

6. У животных в ранний период экспериментальной комбинированной термической травмы выявлена роль экзогенного озона в регуляции

физиологических процессов в организме, которая проявлялась в следующих эффектах воздействия озонированного физиологического раствора при ожоговом шоке: стресс-лимитирующий, гомеостатический (оказывающий влияние на вегетативное расстройство), вазомоторный (улучшающий микроциркуляцию), энергостимулирующий (повышение КБЭР), антигипоксический (снижение концентрации лактата), гипогликемический (снижение концентрации глюкозы), антиоксидантный (повышение активности СОД, каталазы и снижение СРО), детоксикационный (снижение концентрации МДА, рост активности АлДГ).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алясова, А.В. Изменение содержания цинка, меди, железа в организме лабораторных животных под влиянием низких концентраций озонированного физиологического / А.В. Алясова, К.Н. Конторщикова, И.Г. Терентьев и др. // Микроэлементы в медицине. – 2012. – Т. 13, № 2. – С. 42-43.
2. Алясова, А.В. Влияние озонированного физиологического раствора на содержание микроэлементов и показатели перекисного окисления липидов при опухолевом росте / А.В. Алясова, К.Н. Конторщикова, И.Г. Терентьев и др. // Медиаль. – 2013. – Т. 9, № 4. – С. 35-38.
3. Аникеева, О.Ю. Возможности ранней диагностики нейропатии с использованием количественного сенсорного тестирования и кардиоинтервалографии у пациентов с метаболическим синдромом / О.Ю. Аникеева, Е.А. Лоран, Е.Н. Смирнова // Уральский медицинский журнал. – 2013. – Т. 112, № 7. – С. 97-104.
4. Бабунц, И.В. Азбука анализа вариабельности сердечного ритма / И. В. Бабунц, Э.М. Мириджанян, Ю.А. Машаех. – Ставрополь: Принт-мастер, 2011. – 112с.
5. Баевский, Р.М. Спектральный анализ функции сердечного автоматизма / Р.М. Баевский, И.Г. Нидеккер // Материалы симпозиума «Статистическая электрофизиология». – Вильнюс, 1968. – С. 751.
6. Баевский, Р.М. Математический анализ изменений сердечного ритма при стрессе / Р.М. Баевский, О.И. Кириллов, С.З. Клецкин. – М.: Наука, 1984. – 220 с.
7. Баевский, Р.М. Прогнозирование состояний на грани нормы и патологии / Р.М. Баевский. – М.: Медицина, 1979. – 295 с.
8. Беляков, Е.С. Роль оксидативного стресса в развитии дисфункции эндотелия / Е.С. Беляков, Е.Ю. Мельничук // Молодой ученый. — 2020. — № 3. — С. 95-96.
9. Биткина, О.А. Научное обоснование применения медицинской озон-кислородной смеси для лечения розовых и вульгарных угрей на основе

динамики показателей перекисного окисления липидов, антиоксидантной защиты и окислительной модификации протеинов: Автореферат дис. ... доктора медицинских наук / О.А. Биткина. – Москва, 2010. – 48 с.

10. Бояринов, Г.А. Роль трансфузии озонированной эритроцитной массы в восстановлении морфологических изменений миокарда при кровопотере / Г.А. Бояринов, И.С. Симутис, В.О. Никольский и др. // Общая реаниматология. – 2018. – Т. 14, № 3. – С. 27-35.

11. Булаева, Н.И. Эндотелиальная дисфункция и оксидативный стресс: роль в развитии кардиоваскулярной патологии / Н.И. Булаева, Е.З. Голухова // Креативная кардиология. – 2013. – № 1. – С. 14–21.

12. Ванин, А.Ф. Действие динитрозильного комплекса железа на метаболизм и клеточные мембраны ишемизированного сердца крысы / А.Ф. Ванин, О.И. Писаренко, И.М. Студнева и др. // Кардиология. – 2009. – № 12. – С. 43-49.

13. Владимиров, Ю.А. Свободные радикалы и клеточная хемилюминесценция / Ю.А. Владимиров, Е.В. Проскурнина // Успехи биологической химии. – 2009. – Т. 49. – С. 341–388.

14. Воробьев, А.В. Способ моделирования комбинированной ожоговой травмы / А.В. Воробьев, С.П. Перетягин, А.М. Размахов и др. // Патент № 2408081. – Оpubл. 27.12.2010. – Бюл. № 36.

15. Гаврилушкин, А.П. Анализ вариабельности ритма сердца у спортсменов. Методические рекомендации / А.П. Гаврилушкин, А.П. Медведев, А.П. Маслюк и др. – Нижний Новгород: Нижегородская государственная медицинская академия, 1998. – 49с.

16. Гланц, С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. – М.: Практика, 1999. – 459с.

17. Глуткин, А.В. Термический ожог кожи у детей раннего возраста (опыт эксперимента и клиники): монография / А.В. Глуткин, В.И. Ковальчук. – Гродно: ГрГМУ, 2016. – 180 с.

18. Гольдзон, М.А. Сократительная функция миокарда крыс при ожоговой

- травме / М.А. Гольдзон, А.А. Малыгина, А.В. Ершов // Материалы II междунар. Пироговской студ. науч. конф. – М., 2007. – С. 461.
19. Гольдзон, М.А. Влияние термической травмы на сократительную функцию миокарда крыс и фагоцитарную активность лейкоцитов / М.А. Гольдзон, А.А. Малыгина // Актуальные проблемы патофизиологии: матер. конф. с международным участием – СПб., 2008. – С.25.
20. Гольдзон, М.А. Сравнительная оценка различных вариантов инфузионной терапии при ожоговом шоке / М.А. Гольдзон // Тез. Всерос. науч.-практ. конф. анестезиологов-реаниматологов. – Омск, 2009. – С. 8-9.
21. Гольдзон, М.А. Гемодинамические и метаболические нарушения у крыс при тяжелой термической травме и их коррекция / М.А. Гольдзон, В.Т. Долгих, А.О. Гирш, А.В. Ершов. // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2010. – Т. 30, № 2. – С 67-69.
22. Гольдзон, М.А. Нарушения сократительной функции миокарда крыс при термической травме и пути их коррекции / М.А. Гольдзон, В.Т. Долгих, А.О. Гирш // Профилактическая и клиническая медицина. – 2010. – №2. – С. 89-92.
23. Гольдзон, М.А. Влияние тяжелой термической травмы на сократимость и метаболизм сердца / М.А.Гольдзон, В.Т. Долгих // Общая реаниматология. – 2011. – Т. 7, № 1. – С. 11-14.
24. Гольдзон, М.А. Системная гемодинамика крыс при тяжелой термической травме и влияние различных вариантов инфузионной терапии / М.А. Гольдзон, В.Т. Долгих // Жизнеобеспечение при критических состояниях: тез. докл. 13-й Всерос. конф. – М., 2011. – С. 55-56.
25. Гусакова, С.В. Газовая сигнализация в клетках млекопитающих / С.В. Гусакова, И.В. Ковалев, Л.В. Смаглий и др. // Успехи физиологических наук. – 2015. – Т. 46, № 4. – С. 53-73.
26. Гусейнов, Т.С. Морфология микроциркуляторного русла при ожоговом шоке и коррекции инфузией перфторана / Т.С. Гусейнов, Р.Д. Мейланова, С.Т. Гусейнова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2013. – Т. 155, №1. – С. 125-128.

27. Дворников, А.В. Изменение variability сердечного ритма в условиях эмоционального стресса у крыс на фоне блокатора адренорецепторов / А.В. Дворников, И.В. Мухина, В.Н. Крылов // Нижегородский медицинский журнал. – 2003. – № 1. – С. 17-22.
28. Дзасохова И.Ч. Применение магнито-ИК-свето-лазерной и озонотерапии в комплексе лечебно-реабилитационных мероприятий у больных после тубэктомии по поводу внематочной беременности: Диссертация ... кандидата медицинских наук / И.Ч. Дзасохова. – Москва, 2009. – 129 с.
29. Ещенко, Н.Д. Выделение митохондриальной и цитоплазматической фракций тканей для анализа активности ферментов / Н.Д. Ещенко // Методы биохимических исследований. – Ленинград: Изд-во Ленинградского ун-та, 1982. – С.29-33.
30. Жемайтите, Д.И. Возможности клинического применения автоматического анализа ритмограммы: Автореферат дис. ... доктора медицинских наук / Д.И. Жемайтите. – Каунас, 1972. – 285 с.
31. Жемайтите, Д.И. Вегетативная регуляция синусового ритма у здоровых и больных. Анализ сердечного ритма / Д.И. Жемайтите. – Вильнюс, 1980. – С. 22-31.
32. Жемайтите, Д.И. Система автоматизированного анализа ритмограмм / Д.И. Жемайтите, И. Каукенас, В. Кусас // Анализ сердечного ритма. – Вильнюс: Мокслас, 1982. – С. 5-22.
33. Жемайтите, Д.И. Возможность оценки вегетативной регуляции сердечной деятельности у больных ИБС с использованием неинвазивных методов исследования / Д.И. Жемайтите, Г.А. Варонецкас, Ю.Й. Брожайтене, Г.А. Жилюкас // Кардиология. – 1988. – Т. 28, № 4. – С. 35-41.
34. Жемайтите, Д.И. Зависимость характеристик сердечного ритма и кровотока от возраста у здоровых и больных заболеваниями сердечно-сосудистой системы / Д.И. Жемайтите, А. Кепеженас, А. Мартинкенас, Г.А. Варонецкас // Физиология человека. – 1998. – Т. 24, № 6. – С. 56-66.
35. Жукова, Н.Э. Оценка эффективности озонотерапии у пациентов с

- алкогольным абстинентным синдромом по параметрам variability сердечного ритма / Н.Э. Жукова, А.К. Мартусевич, А.П. Спицин // Профилактическая медицина. – 2012. – № 5. – С. 53.
36. Зимин, Ю.С. Кинетика и механизм озонированного окисления спиртов, эфиров, кетонов и олефинов в водной среде: Автореферат дис. ... доктора химических наук / Ю.С. Зимин. – Уфа, 2006. – 50с.
37. Кантюков, С.А. Состояние процессов свободно-радикального окисления при термической травме разной степени тяжести / С.А. Кантюков, Л.В. Кривохижина, Р.Р. Фархутдинов // Вестник ЮУрГУ. – 2010. – № 24. – С. 117–124.
38. Катюхин, Л.Н. Влияние курсового лечения инъекциями озонированного физиологического раствора на реологические свойства эритроцитов у больных с комплексной патологией / Л.Н. Катюхин // Физиология человека. – 2016. – Т. 42, № 6. – С. 100-105.
39. Кершенгольц, Б.М. Некоторые методические подходы к изучению метаболизма этанола / Б.М. Кершенгольц, Е.В. Серкина // Лабораторное дело. – 1981. – № 2. – С.126.
40. Козлов, С.А. Патогенетические основы комплексной терапии комбинированной травмы (ожог на фоне кровопотери): Автореферат дис. ... доктора медицинских наук / С.А. Козлов. – Саранск, 2003. – 37 с.
41. Конторщикова, К.Н. Перекисное окисление липидов при коррекции гипоксических состояний физико-химическими факторами: Автореферат дис. ... доктора биологических наук / К.Н. Конторщикова. – СПб, 1992. – 30 с.
42. Коняева, Т.И. Оценка чувствительности показателей микроциркуляции к оксиду азота и ацетилхолину / Т.И. Коняева, Г.В. Красников, А.В. Танканаг и др. // Матер. междунар. конференции «Гемореология и микроциркуляция»ю – Ярославль, 2003. – С. 133.
43. Костина, О.В. Роль некоторых биохимических показателей в особенностях метаболизма клеток при термической травме / О.В. Костина, А.Г. Соловьева, Ю.В. Зимин // Медицинский альманах. – 2012. – № 5. – С.

178-180.

44. Кочетов, Г.А. Практическое руководство по энзимологии / Г.А. Кочетов. – М.: Высшая школа, 1980. – 272 с.
45. Кочетыгов Н.И. О способах воспроизведения термических ожогов в эксперименте / Н.И. Кочетыгов. – Ленинград: Воен.-мед. ордена Ленина акад. им. С.М. Кирова, 1964. – 40 с.
46. Кошелева, И.В. Кислородно-озоновая терапия хронических иммунозависимых дерматозов: Диссертация ... доктора медицинских наук / И.В. Кошелева. – Москва, 2013. – 242 с.
47. Крупаткин, А.И. Клиническая нейроангиофизиология конечностей (периваскулярная иннервация и нервная трофика) / А.И. Крупаткин. – М.: Научный мир, 2003. – 328с.
48. Крупаткин, А.И. Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови / А.И. Крупаткин, В.В. Сидоров. – М.: Медицина, 2005. – 254 с.
49. Крупаткин, А.И. Функциональная диагностика состояния микроциркуляторно-тканевых систем: колебания, информация, нелинейность: руководство для врачей / А.И. Крупаткин, В.В. Сидоров. – М.: Книжный дом "ЛИБРОКОМ", 2013. – 496 с.
50. Кувакина, Н.А. Влияние озонированного физиологического раствора на вирулентность синегнойных бактерий: экспериментальное исследование: Автореферат дис. ... кандидата медицинских наук / Н.А. Кувакина. – Нижний Новгород, 2006. – 19 с.
51. Кузьмина, Е.И. Методы хемилюминесценции в изучении нарушений свободнорадикального процесса, его регуляции при ряде заболеваний мочеполовой системы / Е.И. Кузьмина, С.В. Ермолин, А.Ф. Учугина // Нижегородский медицинский журнал. – 1993. – № 1. – С. 8.
52. Кытикова, О.Ю. Открытые вопросы сложности дозирования медицинского озона / О.Ю. Кытикова, Т.А. Гвозденко // Научный альманах. – 2015. – Т. 8, № 10. – С. 962-964.
53. Лазаренко, В.А. Влияние синтетического аналога индолицидина на

- процессы перекисного окисления липидов при термических ожогах / В.А. Лазаренко, Ю.Д. Ляшев, Н.И. Шевченко // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2014. – Т. 157, № 4. – С. 443–445.
54. Леонов, А.Н. Гипероксия. Адаптационно-метаболическая концепция саногенеза / А.Н. Леонов // Бюллетень гипербарической биологии и медицины. – 1993. – Т. 1, № 1-4. – С. 61-74.
55. Лукьянчук, О.В. Эндотелиальная дисфункция при проведении радиотерапии у онкологических больных / О.В. Лукьянчук, А.М. Москаленко, И.И. Бокал и др. // Вестник морской медицины. – 2019. – Т. 82, № 1. – С. 38-43.
56. Мартусевич, А.К. Метаболические аспекты ожогового эндотоксикоза / А.К. Мартусевич, С.П. Перетягин, И.Е. Погодин // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2009. – №1. – С. 30-32.
57. Мартусевич, А.К. Адаптационные возможности сердца при интоксикации различной степени выраженности / А.К. Мартусевич, С.П. Перетягин, Н.Э. Жукова // Функциональная диагностика. – 2011. – №2. – С. 20-23.
58. Мартусевич, А.К. Оценка уровня кардиореспираторной синхронизации при интоксикации организма / А.К. Мартусевич, С.П. Перетягин, Н.Э. Жукова // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2012. – № 43. – С. 89-92.
59. Мартусевич, А.К. Экспериментальная оценка влияния лекарственных композиций на состояние микроциркуляции в раннем послеожоговом периоде / А.К. Мартусевич, К.Д. Ларионова, С.П. Перетягин и др. // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 3. – С. 332-336.
60. Масленников, О.В. Руководство по озонотерапии 3-е издание переработанное и дополненное / О.В. Масленников, К.Н. Конторщикова, Б.Е. Шахов. – Нижний Новгород: Вектор-Тис, 2012. – 332с.
61. Масленников, О.В. Руководство по озонотерапии / О.В. Масленников, К.Н. Конторщикова. – Нижний Новгород: Вектор-ТиС, 2005. – 286с.
62. Машаех, Ю.А. Диагностика и лечение вегетативного дисбаланса при идиопатической дилатационной кардиомиопатии: Автореферат дис. ...

- кандидата медицинских наук / Ю.А. Мишаев. – Ставрополь, 2003. – 22с.
63. Мельникова, Ю.С. Эндотелиальная дисфункция как центральное звено патогенеза хронических болезней / Ю.С. Мельникова, Т.П. Макарова // Казанский медицинский журнал. – 2015. – Т. 96, № 4. – С. 659–665.
64. Меньщикова, Е.Б. Молекулярно-клеточные механизмы развития «окислительного стресса»: Диссертация ... доктора медицинских наук / Е.Б. Меньщикова. – Новосибирск, 1998. – 338 с.
65. Меньщикова, Е.Б. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты / Е.Б. Меньщикова, В.З. Ланкин, Н.К. Зенков. – М.: Фирма Слово, 2006. – 556 с.
66. Меньщикова, Е.Б. Окислительный стресс: патологические состояния и заболевания / Е.Б. Меньщикова, Н.К. Зенков, В.З. Ланкин и др. – Новосибирск: АРТА, 2008. – 284 с.
67. Микроциркуляция в кардиологии / Под ред. В.И. Маколкина. – М.: Визарт, 2004 – 213с.
68. Михайлов, В.М. Вариабельность сердечного ритма. Опыт практического применения метода / В.М. Михайлов. – Иваново, 2000. – 200 с.
69. Михальчик, Е.В. Показатели окислительного стресса при ожоговой травме: Автореферат дис. ... доктора биологических наук. – Москва, 2006. – 38с.
70. Нормальная физиология. Курс физиологии функциональных систем. – М.: Медицинское информационное агентство, 1999. – 560 с.
71. Обыденникова, Т.Н. Новые подходы к оценке микроциркуляции в клинической практике / Т.Н. Обыденникова, В.В. Усов, П.А. Грибань и др. // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2007. – № 4. – С. 71-74.
72. Оксидативный стресс и воспаление: патогенетическое партнерство: Монография / Под ред. О.Г. Хурцилавы, Н.Н. Плужникова, Я.А. Накатиса. – СПб.: Издательство СЗГМУ им. И. И. Мечникова, 2012. – 340 с.
73. Парамонов, Б.А. Ожоги. Руководство для врачей / Б.А. Парамонов, Я.О. Порембский, В.Г.Яблонский. – СПб.: СпецЛит, 2000. – 480 с.
74. Перетягин, С.П. Патофизиологическое обоснование озонотерапии

постгеморрагического периода: Автореферат дис. ... доктора медицинских наук / С.П. Перетягин. – Казань, 1991. – 46 с.

75. Перетягин, С.П. О многофакторном механизме лечебного действия озона / С.П. Перетягин // Нижегородский медицинский журнал. – 2003. – № 2. – С.6-7.

76. Перетягин, С.П. Способ стимуляции выработки простагландинов в организме / С.П. Перетягин, А.В. Воробьев, С.Н. Бугров и др. // Патент № 2307658. – Оpubл. 10.10.2007. – Бюл. № 38.

77. Перетягин, С.П. Разработка нового способа моделирования комбинированной ожоговой травмы / С.П. Перетягин, А.К. Мартусевич, И.Р. Вазина и др. // Современные технологии в медицине. – 2011. – № 2. – С. 106 – 109.

78. Перетягин, С.П. Лабораторные животные в экспериментальной медицине / С.П. Перетягин, А.К. Мартусевич, А.А. Гришина и др. – Нижний Новгород: ФГУ «ННИИТО» МЗСР РФ, 2011. – 300 с.

79. Перетягин, С.П. Применение озона как средства детоксикации в раннем периоде ожоговой болезни / С.П. Перетягин, А.А. Стручков, А.К. Мартусевич и др. // Скорая медицинская помощь. – 2011. – Т. 12, № 2. – С. 39 – 43.

80. Перетягин, П.В. Изменение показателей окислительного метаболизма крови при хроническом воздействии различных доз активных форм кислорода в эксперименте / П.В. Перетягин, А.Г. Соловьева // Современные проблемы науки и образования. – 2016. - №2. – С. 164.

81. Перетягин, П.В. Устройство для экспериментального моделирования термической травмы / П.В. Перетягин, А.Г. Соловьева, А.С. Лузан и др. // Патент на полезную модель № 179126. – Оpubл. 26.04.2018.

82. Пожилова, Е.В. Активные формы кислорода в физиологии и патологии клетки / Е.В. Пожилова, В.Е. Новиков, О.С. Левченкова // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2015. – Т. 14. № 2. – С. 13-22.

83. Поликарпова, А.В. Сравнительное изучение динамики перекисного

окисления липидов и антиоксидантной системы при ожогах различной природы / А.В. Поликарпова, Е.Э. Перский // Вісник Харківського національного університету імені В.Н.Каразіна. Серія: біологія. – 2009. – Т. 878, № 10. – С. 40–47.

84. Проскурнина, Е.В. Свободные радикалы как участники регуляторных и патологических процессов / Е.В. Проскурнина, Ю.А. Владимиров // Фундаментальные науки – медицине. Биофизические медицинские технологии. Т. 1. – Москва: Макс Пресс, 2015. – С. 38–71.

85. Проскурина, Е.В. Методы оценки свободнорадикального гомеостаза крови: Автореферат дис. ... доктора медицинских наук / Е.В. Проскурина. – Москва, 2018. – 48 с.

86. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.

87. Рябыкина, Г.В. Вариабельность ритма сердца / Г.В. Рябыкина, А.В. Соболев. – М.: Оверлей, 2000. – 200 с.

88. Сазонова, В.В. Динамика гематологических параметров крови служебных собак под действием озонированного физиологического раствора / В.В. Сазонова, Ю.А. Котова // Успехи современного естествознания. – 2014. – № 5-1. – С. 227-228.

89. Саркулова, Ж.Н. Озонотерапия в лечении больных с ишемическим инсультом / Ж.Н. Саркулова, А.Б. Токшилыкова, Г.Б. Кабдрахманова // Оренбургский медицинский вестник. – 2018. – Т. 6, № 2. – С. 24-28.

90. Свиряева, И.В. Свободные радикалы кислорода и антиоксиданты в митохондриях сердца и модельных системах: Автореферат дис. ... кандидата физико-математических наук / И.В. Свиряева. – М., 2008. – 23 с.

91. Сибгатуллина, Г.В. Методы определения редокс-статуса культивируемых клеток растений: учебно-методическое пособие / Г.В. Сибгатуллина, Л.Р. Хаертдинова, Е.А. Гумерова и др. – Казань: Казанский (Приволжский) Федеральный университет, 2011. – 61 с.

92. Сидоров, В.В. Физические основы метода лазерной доплеровской

флоуметрии и его применение в неврологической практике / В.В. Сидоров, М.А. Ронкин, И.М. Максименко и др. // Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. – 2003. – № 12. – С. 26-35.

93. Сирота, Т.В. Новый подход в исследовании процесса аутоокисления адреналина и использование его для измерения активности супероксиддисмутаза / Т.В. Сирота // Вопросы медицинской химии. – 1999. – Т. 45, № 3. – С. 109–116.

94. Сирота, Т.В. Стандартизация и регуляция скорости супероксидгенирующей реакции аутоокисления адреналина, используемой для определения про/антиоксидантных свойств различных материалов / Т.В. Сирота // Биомедицинская химия. – 2016. – Т. 62, № 6. – С 650–655.

95. Скоромец, А.А. Соматоневрология: руководство / А.А. Скоромец. – Санкт-Петербург: СпецЛит, 2009. – 655 с.

96. Смирнов, Н.А. Использование спектрального ритма сердца для диагностики заболеваний нервной системы / Н.А. Смирнов, С.А. Котельников, В.Ю. Давыденко и др. // Материалы междунар. симпозиума «Компьютерная электрокардиография на рубеже столетий». – Москва, 1999. – С. 54.

97. Соловьева, А.Г. Способ оценки динамики метаболизма крови у больных с термической травмой / А.Г. Соловьева, Ю.В. Зимин // Патент №2392865 С1. – Оpubл. 27.06.2010. – Бюл. №18.

98. Соловьева, А.Г. Новый способ оценки динамики метаболизма крови у больных с термической травмой / А.Г. Соловьева, Ю.В. Зимин // Современные технологии в медицине. – 2012. – №2. – С. 116-117.

99. Соловьева, А.Г. Модификация состояния некоторых детоксикационных систем крови при ее обработке оксидом азота в свободной и связанной форме / А.Г. Соловьева, А.К. Мартусевич // Врач-аспирант. – 2014. – № 1-2. – С. 294-299.

100. Соловьева, А.Г. Каталитические свойства лактатдегидрогеназы в органах крыс с термической травмой при воздействии глутатион-содержащих

динитрозильных комплексов железа / А.Г. Соловьева, С.П. Перетягин, А.И. Дударь // Вестник Томского государственного университета. Биология. – 2015. – Т. 31, №3. – С. 130–145.

101. Соловьева, А.Г. Состояние и особенности регуляции оксидоредуктаз системы биотрансформации при термической травме и в условиях воздействия активными формами кислорода и азота: Дис. ... доктора биологических наук / А.Г. Соловьева. – Москва, 2020. – 465 с.

102. Соловьева, А.Г. Особенности метаболизма глюкозы и лактата крови крыс при длительном дозозависимом влиянии озона / А.Г. Соловьева, С.П. Перетягин, П.В. Перетягин // Биорадикалы и антиоксиданты. – 2021. – Т.8, № 1, – С. 40-44.

103. Стручков, А.А. Применение озона при местном лечении ожоговых ран : Автореферат дис. ... кандидата медицинских наук / А.А. Стручков. – Нижний Новгород, 2007. – 23 с.

104. Стряпко, Н.В. Адаптация к гипоксии и гипероксии при действии токсикантов в низких дозах: свободно-радикальное окисление и компоненты редокс-сигнализации: Автореферат дис. ... кандидата медицинских наук / Н.В. Стряпко. – Москва, 2015. – 23с.

105. Субботина, Н.С. Состояние вегетативной регуляции сердечного ритма при хронической недостаточности мозгового кровообращения / Н.С. Субботина, О.В. Доршакова, Е.М. Козловская, Г.П. Белоусова // Ученые записки Петрозаводского государственного университета. – 2015. – Т. 149, № 4. – С. 55-60.

106. Турманидзе, А.В. Физиологические особенности системы кровообращения у квалифицированных бадминтонистов: миография / А.В. Турманидзе, И.Н. Калинина, В.Г. Турманидзе. – Омск: ОмГУ, 2016. – 176с.

107. Тюзиков, И.А. Окислительный стресс и ацидоз – просто диагностировать, просто лечить! Часть 1 / И.А. Тюзиков, С.Ю. Калинин // Эстетическая медицина. – 2017. – Т. 16, № 1. – С. 1–9.

108. Тюзиков, И.А. Окислительный стресс и ацидоз – просто

диагностировать, просто лечить! Часть 2 / И.А. Тюзиков, С.Ю. Калинин // Эстетическая медицина. – 2017. – Т. 16, № 2. – С. 1–7.

109. Удельнов, М. Г. Физиология сердца / М.Г. Удельнов. – М., 1975. – 302 с.

110. Улащик, В.С. Активные формы кислорода, антиоксиданты и действие лечебных физических факторов / В.С. Улащик // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. – 2013. – № 1. – С. 60-69.

111. Ушакова, Т.А. Адаптивные реакции у тяжелообожженных в условиях интенсивной терапии: Дис. ... доктора медицинских наук / Т.А. Ушакова. – Москва, 2008. – 260 с.

112. Флейшман, А.Н. Медленные колебания гемодинамики. Теория, практическое применение в клинической медицине и профилактике / А.Н. Флейшман А.Н. – Новосибирск: Наука, 1998. – 264 с.

113. Фолков, Б. Кровообращение / Б. Фолков, Э. Нил Э. – М.: Медицина, 1976. – 464с.

114. Худякова, Л.А. Исследование variability сердечного ритма с помощью статических и геометрических методов / Л.А. Худякова, А.И. Багатенкова, Д.М. Гончарова // Вестник национального технического университета Украины «Киевский политехнический институт». – 2017. – Т.53, № 1. – С. 95-103.

115. Хушкадамов, З.К. Морфологические изменения нервной системы при ожоговой травме / З.К. Хушкадамов, О.Т. Девонаев // Вестник Авиценны. – 2009. – № 3. – С. 149-154.

116. Чеснокова, Н.П. Молекулярно-клеточные механизмы цитотоксического действия гипоксии. Патогенез гипоксического некробиоза / Н.П. Чеснокова, Е.В. Понукалина, М.Н. Бизенкова // Современные наукоемкие технологии. – 2006. – № 7. – С. 31–39.

117. Швецова, А.А. Роль активных форм кислорода в регуляции тонуса кровеносных сосудов в перинатальном и раннем постнатальном онтогенезе / А.А. Швецова, Д.К. Гайнуллина, О.С. Тарасова // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2023. – Т. 109, № 12. – С.

1742–1762.

118. Щербатюк, Т.Г. Современное состояние озонотерапии в медицине. Перспективы применения в онкологии / Т.Г. Щербатюк // Современные технологии в медицине. – 2010. – № 1. – С. 99-106.
119. Adali, Y. Efficacy of Ozone and Selenium Therapy for Alcoholic Liver Injury: An Experimental Model / Y. Adali, H.A. Eroglu, M. Makav, G.F. Guvendi // *In Vivo*. – 2019. – Vol. 33, № 3. – P. 763-769.
120. Akselrod, S. Power spectrum analysis of heart rate fluctuations: a quantitative probe of beat to beat cardiovascular control / S. Akselrod, D. Gordon, F.A. Ubel et al. // *Science*. – 1981. – № 213. – P. 220-222.
121. Almond, N. Laser Doppler flowmetry: Theory and practice, Laser Doppler / N. Almond. – London, Los Angeles, Nicosia: Med-Orion Publishing Company, 1994, p. 17 – 31.
122. Amorim, E.O.C. Inactivation of *E. coli* and *B. subtilis* spores in ozonized cassava starch / E.O.C. Amorim, A.A.L. Tribst, P.E.D. Augusto, M. Cristianini // *Food Sci. Technol*. – 2013. – Vol. 33, 2. – P. 289-294.
123. Bartz, R.R. Clinical review: oxygen as a signaling molecule / R.R. Bartz, C.A. Piantadosi // *Crit. Care*. – 2010. – Vol. 14, № 5. – P. 234.
124. Beiraghi-Toosi, A. Burn-induced oxidative stress and serum glutathione depletion; a cross sectional study / A. Beiraghi-Toosi, R. Askarian, F.S. Haghighi et al. // *Emerg (Tehran)*. – 2018. – Vol. 6, № 1. – P. e54.
125. Bocci, V. Ozone – A New Medical Drug, 2nd ed. / V. Bocci. – Netherlands: Springer, 2010. – 313p.
126. Bocci, V. Ozone: a new therapeutic agent in vascular diseases / V. Bocci, I. Zanardi, V. Travagli // *Am J Cardiovasc Drugs*. – 2011. – Vol. 11, № 2. – P. 73-82.
127. Bollinger, A. Is High-Frequency Flux Motion due to Respiration or to Vasomotion Activity? / A. Bollinger, A. Yanar, U. Hoffmann, U.K. Franzeck // *Progress in Applied Microcirculation*. Basel, Karger. – 1993. – Vol. 20. – P. 52-58.
128. Borgos, J. Principles of instrumentation: Calibration and technical issues. Laser Doppler / J. Borgos. – London, Los Angeles, Nicosia: Med-Orion Publishing

Company, 1994. – P. 3 – 16.

129. Borrelli, E. The Use of Ozone in Medicine / E. Borrelli, V. Bocci // *Annals of Medical and Health Sciences Research*. – 2018. – Vol. 8, № 2. – P.117-119.

130. Boyarinov, G.A. The analysis of interaction of ozone and sodium chloride in Aqueous solution / G.A. Boyarinov, A.S. Gordetsov, S.P. Peretyagin et al. // *Rev Esp de Ozonoterapia*. – 2016. – № 6. – P. 77.

131. Brown, D.I. Regulation of signal transduction by reactive oxygen species in the cardiovascular system / D.I. Brown, K.K. Griendling // *Circ Res*. – 2015. – № 116. – P. 531–549.

132. Brusselaers, N. Severe burn injury in Europe: a systematic review of the incidence, etiology, morbidity, and mortality / N. Brusselaers, S. Monstrey, D. Vogelaers et al. // *Crit Care*. – 2010. – Vol. 14. – № 5. – P. 188.

133. Buyuklu, M. Beneficial Effects of Ozone Therapy on Oxidative Stress, Cardiac Functions and Clinical Findings in Patients with Heart Failure Reduced Ejection Fraction / M. Buyuklu, F.M. Kandemir, T. Set et al. // *Cardiovascular Toxicology*, 2017. – Vol. 17, №4. – P. 426-433.

134. Čapek, J. Detection of Oxidative Stress Induced by Nanomaterials in Cells- The Roles of Reactive Oxygen Species and Glutathione / J. Čapek, T. Roušar // *Molecules*. – 2021. – Vol. 26, № 16. – P. 4710.

135. Cerutti, C. Baroreflex modulation of blood pressure and heart rate variabilities in rats: assessment by spectral analysis / C. Cerutti, C. Barres, C. Paulter // *Am J Physiol*. – 1994. – Vol. 266, № 5. – P. 1993–2000.

136. Chyzh, M. Parameters of Spectral Analysis of Heart Rate Variability in Rats / M. Chyzh // *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. – 2015. – № 25. – P. 235-245.

137. Crimi, E. Microcirculation and oxidative stress / E. Crimi, L.J. Ignarro, C. Napoli // *Free Radic Res*. – 2007. – Vol. 41, № 12. – P. 1364-1375.

138. Delgado-Roche, L. Ozone-Oxidative Preconditioning Prevents Doxorubicin-induced Cardiotoxicity in Sprague-Dawley Rats. Sultan Qaboos Univ / L. Delgado-Roche, Y. Hernandez-Matos, E.A. Medina et al. // *Med J*. – 2014. – Vol.

14, № 3. – P. e342-348.

139. Delgado-Roche, L. Medical ozone promotes Nrf2 phosphorylation reducing oxidative stress and pro-inflammatory cytokines in multiple sclerosis patients / L. Delgado-Roche, M. Riera-Romo, F. Mesta et al. // *European Journal of Pharmacology*. – 2017. – Vol. 811, № 3. – P.148-154.

140. Delgado-Roche, L. Medical Ozone Promotes Nrf2 Phosphorylation Reducing Oxidative Stress And Proinflammatory Cytokines In Multiple Sclerosis Patients / L. Delgado-Roche, M. Riera-Romo, F. Mesta et al. // *Rev Esp Ozonoterapia*. – 2018. – № 8. – P. 48-49.

141. Ding, Y. Reactive oxygen species-mediated TRPC6 protein activation in vascular myocytes, a mechanism for vasoconstrictor-regulated vascular tone / Y. Ding, A. Winters, M. Ding et al. // *J Biol Chem*. – 2011. – № 286. – P. 31799–31809.

142. Diracoglu, D. Ozone-oxygen therapies in musculoskeletal diseases / D. Diracoglu // *Turkish Journal of Physical Medicine and Rehabilitation*. – 2016. – Vol.62, № 3. – P. 183-191.

143. Donato, A.J. Cellular and molecular biology of aging endothelial cells / A.J. Donato, R.G. Morgan, A.E. Walker, L.A. Lesniewski // *J Mol Cell Cardiol*. – 2015. – № 89. – P. 122–135.

144. Elkholy, W.B. Role of medical ozone in attenuating age-related changes in the rat cerebellum / W.B. Elkholy, M.A. Al-Gholam // *Microscopy*. – 2018. – Vol. 67, № 4. – P. 459-472.

145. 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.

146. Epelle, E.I. Ozone application in different industries: A review of recent developments / E.I. Epelle, A. Macfarlane, M. Cusack et al. // *Chemical Engineering Journal*. 2023. – № 454. – P. 140188-140209.

147. Ewing, D.J. The value of cardiovascular autonomic function tests: 10 years experience in diabetes / D.J. Ewing, C.N. Martin, R.J. Young, B.F. Clarke // *Diabetic Care*. – 1985. – № 8. – P. 491-498.

148. Fagrell, B. Problems using laser Doppler on the skin in clinical practice, *Laser Doppler* / B. Fagrell. – London, Los Angeles, Nicosia: Med-Orion Publishing Company, 1994 – P. 34-45.
149. Filippou, D. Nitric oxide, antioxidant capacity, nitric oxide synthase and xanthine oxidase plasma levels in a cohort of burn patients / D. Filippou, V. Papadopoulos, A. Triga et al. // *Burns*. – 2007. – Vol. 33, № 8. – P. 1001-1007.
150. Fontes, B. Effect of low-dose gaseous ozone on pathogenic bacteria / B. Fontes, A.M. Cattani Heimbecker, G. de Souza Brito et al. // *BMC Infect Dis*. – 2012. – № 12. – P. 358-371.
151. Forman, H.J. Reactive oxygen species and alpha,beta-unsaturated aldehydes as second messengers in signal transduction / H.J. Forman // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2010. – Vol. 1203. – P. 35–44.111.
152. Forstermann, U. Nitric oxide synthases: Regulation and function / U. Forstermann, W.C. Sessa // *Eur. Heart J*. – 2012. – № 33. – P. 829–837.
153. Ghosh, A. Role of free fatty acids in endothelial dysfunction / A. Ghosh, L. Gao, A. Thakur et al. // *Journal of Biomedical Science*. — 2017. — № 24. – P. 1-9.
154. Gomez-Crisostomo, N.P. Oxidative Stress Activates the Transcription Factors FoxO 1a and FoxO 3a in the Hippocampus of Rats Exposed to Low Doses of Ozone / N.P. Gomez-Crisostomo, E.R. Martinez, S. Rivas-Arancibia // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2014. – Vol. 2014. – P. 1-8.
155. Griggs, C. Sedation and pain management in burn patients / C. Griggs, J. Gorman, E.A. Bittner, B. Levi // *Clin Plast Surg*. – 2017. – Vol. 44, № 3. – P. 535-540.
156. Halliwell, B. Hydrogen peroxide in the human body / B. Halliwell, M.V. Clement, L.H. Long // *FEBS Lett*. – 2000. – Vol. 486, № 1. – P. 10-13.
157. Halliwell, B. *Free Radicals in Biology and Medicine*, 5th ed. / B. Halliwell, J.M.C. Gutteridge. – Oxford: Oxford University Press, 2015. – 234p.
158. Hashmi, D. The Current State of Topical Burn Treatments: a Review / D. Hashmi, L. Haith // *Current Trauma Reports*. – 2019. – № 5. – P. 1-9.
159. Hon, E.H. Electronic evaluation of the fetal heart rate / E.H. Hon, S.T. Lee //

Am J of Obstet Gynecol. – 1965. – Vol. 87, № 6. – P. 814-826.

160. Imai, Y. Identification of oxidative stress and Toll-like receptor 4 signaling as a key pathway of acute lung injury / Y. Imai, K. Kuba, G.G. Neely et al. // Cell. – 2008. – Vol. 133, № 2. – P. 235–249.

161. Jackson, D.M. The diagnosis of the depth of burning / D.M. Jackson // Br J Surg. – 1953. – № 40. – P. 588-596.

162. Jones, D.P. Radical-free biology of oxidative stress / D.P. Jones // Am J Physiol Cell Physiol. – 2008. – Vol. 295, № 4. – P. 849-868.

163. Joshi, N. Endocannabinoid system components: Overview and tissue distribution / N. Joshi, E.S. Onaivi // Adv. Exp. Med. Biol. – 2019. – № 1162. – P. 1–12.

164. Kalb, V.F. Jr. A new spectrophotometric assay for protein in cell extracts / V.F. Jr. Kalb, R.W. Bernlohr // Anal Biochem. – 1977. – Vol. 82, № 2. – P. 362–371.

165. Kaldirim, U. Ozone therapy ameliorates paraquat-induced lung injury in rats / U. Kaldirim, B. Uysal, R. Yuksel et al. // Exp Biol Med (Maywood). – 2014. – Vol. 239, № 12. – P. 1699-1704.

166. Kalyanaraman, B. Teaching the basics of redox biology to medical and graduate students: oxidants, antioxidants and disease mechanisms / B. Kalyanaraman // Redox biology. – 2013. – № 1. – P. 244-257.

167. Knock, G.A. NADPH oxidase in the vasculature: Expression, regulation and signaling pathways; role in normal cardiovascular physiology and its dysregulation in hypertension / G.A. Knock // Free Radic Biol Med. – 2019. – № 145. – P. 385–427.

168. Koppaka, V. Aldehyde dehydrogenase inhibitors: a comprehensive review of the pharmacology, mechanism of action, substrate specificity, and clinical application / V. Koppaka, D.C. Thompson, Y. Chen et al. // Pharmacol. Rev. – 2012. – Vol. 64, № 3. – P. 520-539.

169. Kumae, T. Assessment of training effects on autonomic modulation of the cardiovascular system in mature rats using power spectral analysis of heart rate variability / T. Kumae // Environ Health Prev Med. – 2012. – Vol. 17. – P. 415–422.

170. Kurai, J. Ozone augments interleukin-8 production induced by ambient particulate matter / J. Kurai, K. Onuma, H. Sano et al. // *Genes and Environment*. – 2018. – № 40. – P. 1-15.
171. Kvandal, P. Regulation of human cutaneous circulation evaluated by laser Doppler flowmetry, iontophoresis, and spectral analysis: importance of nitric oxide and prostangladines / P. Kvandal, A. Stefanovska, M. Veber et al. // *Microvascular Research*. – 2003. – № 65. – P. 160-171.
172. Kvernmo, H.D. Oscillations in the Human Cutaneous Blood Perfusion Signal Modified by Endothelium-Dependent and Endothelium-Independent Vasodilators / H.D. Kvernmo, A. Stefanovska, K.A. Kirkeboen, K. Kvernebo // *Microvascular Research*. – 1999. – № 57. – P. 298-309.
173. Landry, M.P. Characterization of photoactivated singlet oxygen damage in single-molecule optical trap experiments / M.P. Landry, P.M. McCall, Z. Qi, Y.R. Chemla // *Biophys. J.* – 2009. – Vol. 97, № 8. – P. 2128-2136.
174. Lee, C.H. Impact of Oxidative Stress on Long-Term Heart Rate Variability: Linear Versus Non-Linear Heart Rate Dynamics/ C.H. Lee, H.W. Shin, D.G. Shin // *Heart Lung Circ.* – 2020. – Vol. 29, № 8. – P. 1164-1173.
175. Li, R. Defining ROS in Biology and Medicine / R. Li, Z. Jia, M.A. Trush // *React Oxyg Species (Apex)*. – 2016. – Vol. 1, № 1. – P. 9-21.
176. Li, Y. Protective properties of spliced X box binding protein 1 in ozone-induced spinal cord neuronal death / Y. Li, X. Zhao, X. Lin // *Molecular medicine reports*. – 2018. – Vol. 18, № 2. – P. 2349-2355.
177. Lu, H.C. Review of the endocannabinoid system / H.C. Lu, K. Mackie // *Biol. Psychiatry Cogn. Neurosci. Neuroimaging*. – 2021. – № 6. – P. 607–615.
178. Lushchak, V. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification / V. Lushchak // *Chemico-Biological Interactions*. – 2014. – Vol. 224. – P. 1-13.
179. Madrid Declaration on Ozone Therapy, 1st ed. – Madrid: International Scientific Committee of Ozone Therapy, 2010. – 95p.
180. Madrid Declaration on Ozone Therapy, 2nd ed. – Madrid: International

Scientific Committee of Ozone Therapy, 2015. – 100p.

181. Madrid Declaration on Ozone Therapy, 3rd ed. – Madrid: International Scientific Committee of Ozone Therapy, 2020. – 104p.

182. Martinez-Sanchez, G. Up-date on the mechanisms of action of ozone through the modification of cellular signaling pathways. Role of Nrf2 and NFkb / G. Martinez-Sanchez, L. Delgado-Roche // *Rev Esp Ozonoterapia*. – 2017. – Vol. 7, № 2. – P. 17-18.

183. Martinez-Sanchez, G. Mechanisms of action of O₃. Genomic pathways / G. Martinez-Sanchez // *Ozone Therapy Global Journal*. – 2019. – Vol. 9, № 1. – P. 21-22.

184. Martusevich, A.K. Experimental study of erythrocytes energy metabolism under inhalations of nitric oxide / A.K. Martusevich, A.G. Samodelkin, A.G. Soloveva et al. // *Asian Journal of Biochemical and Pharmacuetical Research*. – 2015. – Vol. 5, № 2. – P. 130-135.

185. Meza, C.A. Endothelial Dysfunction: Is There a Hyperglycemia-Induced Imbalance of NOX and NOS / C.A. Meza, J.D. La Favor, D.H. Kim, R.C. Hickner // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2019. – Vol. 20, № 15. – P. 3775.

186. Mihara, M. Thiobarbituric acid value on fresh homogenate of rat as a parameter of lipid peroxidation in aging, CCl₄ intoxication, and vitamin E deficiency / M. Mihara, M. Uchiyama, K. Fukuzawa // *Biochem Med*. – 1980. – Vol. 23, № 3. – P. 302–311.

187. Miller, D.B. Inhaled ozone induces changes in serum metabolomic and liver transcriptomic profiles in rats / D.B. Miller, E.D. Karoly, J.C. Jones et al. // *Toxicology and Applied Pharmacology*. – 2015. – Vol. 286, № 2. – P. 65-79.

188. Mokoena, M.L. Ozone exposure of Flinders Sensitive Line rats is a rodent translational model of neurobiological oxidative stress with relevance for depression and antidepressant response / M.L. Mokoena, B.H. Harvey, F. Viljoen et al. // *Psychopharmacology*. – 2015. – Vol. 232, № 16. – P. 2921-2938.

189. Mulder, K. Cross-tissue single-cell landscape of human monocytes and macrophages in health and disease / K. Mulder, A.A. Patel, W.T. Kong et al. //

Immunity. – 2021. – Vol. 54, № 8. – P. 1883-1900.

190. Murphy, K. Percutaneous Treatment of Herniated Lumbar Discs with Ozone: Investigation of the Mechanisms of Action / K. Murphy, G. Elias, J. Steppan et al. // Journal Of Vascular And Interventional Radiology. – 2016. – Vol. 27, № 8. – P. 1242-1250.

191. Murray, B.K. Virion disruption by ozone-mediated reactive oxygen species / B.K. Murray, S. Ohmine, D.P.Tomer // J Virol Methods. – 2008. – Vol. 153, № 1. – P. 74-77.

192. Nabil, M.M. Effect of ozone therapy on redox status in experimentally induced arthritis / M.M. Nabil, M. El-Sawalhi Maha, A.D. Hebatalla et al. // Revista Española de Ozonoterapia. – 2011. – Vol. 1, № 1. – P. 32-43.

193. Nakata, A. Spectral analysis of heart rate, arterial pressure and muscle sympathetic nerve activity in normal humans / A. Nakata, S. Takata, T. Yuasa et al. // Am. J. Physiol. – 1998. – № 274. – P. H1211- H1217.

194. Nasezadeh, P. Moderate O3/O2 therapy enhances enzymatic and non-enzymatic antioxidant in brain and cochlear that protects noise-induced hearing loss / P. Nasezadeh, F. Shahi, M. Fridoni et al. // Free Radical Research. – 2017. – Vol. 51, № 9-10. – P. 828-837.

195. Nasezadeh, P. Protective effect of ozone against hemiscorpius lepturus envenomation in mice / P. Nasezadeh, F. Shahi, D. Shahbazzadeh et al. // Biomedical and environmental sciences. – 2017. – Vol. 30, № 8. – P. 585-594.

196. Nitti, M. Hormesis and oxidative distress: Pathophysiology of reactive oxygen species and the open question of antioxidant modulation and supplementation / M. Nitti, B. Marengo, A.L. Furfaro et al. // Antioxidants. – 2022. – № 11. – P. 1613.

197. Nugent, K. Oxidative stress / K. Nugent // The Southwest Respiratory and Critical Care Chronicles. – 2019. Vol. 27, № 7. – P. 1-12.

198. Ozbay, I. Effects of ozone therapy on facial nerve regeneration / I. Ozbay, I. Ital, C. Kucur et al. // Brazilian Journal of Otorhinolaryngology. – 2017. – Vol. 83, № 2. – P. 168-175.

199. Ozougwu, J. The Role of Reactive Oxygen Species and Antioxidants in Oxidative Stress / J. Ozougwu // International Journal of Pharmacy and Biosciences. – 2016. – № 3. – P. 1-8.
200. Parihar, A. Oxidative stress and antioxidative mobilization in burn injury / A. Parihar, M.S. Parihar, S. Milner, S. Bhat // Burns. – 2008. – Vol. 34, № 1. – P. 6-17.
201. Peretyagin, S.P. Functional and Metabolic Basis of Posthypoxic Rehabilitation by Ozone / S.P. Peretyagin, A.A. Struchkov, A.K. Martusevich et al. // Rev. Esp. Ozonoter. – 2012. – Vol. 2, № 1. – P. 27.
202. Peretyagin, S.P. Ozone therapy in traumatology and burns treatment / S.P. Peretyagin, A.A. Struchkov // Revista Española de Ozonoterapia. – 2013. – Vol. 3, № 1. – P. 67-73.
203. Peretyagin, S.P. Enzymological evaluation of hepatotropic effect of ozone in a subchronic experiment / S.P. Peretyagin, A.K. Martusevich, A.G. Solovyeva et al. // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2013. – Vol. 154, № 6. – P. 789–791.
204. Pinto-Almazan, R. Effect of tibolone pretreatment on kinases and phosphatases that regulate the expression and phosphorylation of Tau in the hippocampus of rats exposed to ozone / R. Pinto-Almazan, J. Segura-Urbe, A. Soriano-Ursua et al. // Neural Regeneration Research. – 2018. – Vol.13, № 3. – P. 440-448.
205. Pisoschi, A.M. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review / A.M. Pisoschi, A. Pop // Eur J Med Chem. – 2015. – № 97. – P. 55-74.
206. Re, L. Ozone in Medicine: A Few Points of Reflections/ L. Re // Front. Physiol. – 2022. – № 13. – P. 842229.
207. Rehou, S. Antioxidant and Trace Element Supplementation Reduce the Inflammatory Response in Critically Ill Burn Patients / S. Rehou, S. Shahrokhi, R. Natanson et al. // J Burn Care Res. – 2018. – Vol. 39, № 1. – P. 1-9.
208. Resitoglu, B. The efficacy of ozone therapy in neonatal rats with hypoxic ischemic brain injury / B. Resitoglu, Y. Celik, M. Komur et al. // Bratislava

- Medical Journal-Bratislavske Lekarske Listy. – 2018. – Vol. 119, № 2. – P. P. 81-85.
209. Rivas-Arancibia, S. Structural Changes of Amyloid Beta in Hippocampus of Rats Exposed to Ozone: A Raman Spectroscopy Study / S. Rivas-Arancibia, E. Rodriguez-Martinez, I. Badillo-Ramirez et al. // *Frontiers In Molecular Neuroscience*. – 2017. – № 10 – P. 1-13.
210. Rivas-Arancibia, S. Oxidative stress-dependent changes in immune responses and cell death in the substantia nigra after ozone exposure in rat / S. Rivas-Arancibia, L.F.H. Zimbron, E. Rodriguez-Martinez et al. // *Frontiers in Aging Neuroscience*. – 2015. – № 7. – P. 65-78.
211. Rosenbaum, M. Frequency-response characteristics of vascular resistance vessels / M. Rosenbaum, D. Race // *Am.J.Physiol.* – 1968. – Vol. 215. – P. 1397-1402.
212. Sa, M.C. Intraforaminal ozone therapy / M.C. Sa, V.M. Goncalves // *Acta Neurochirurgica*. – 2016. – Vol. 158, № 3. – P. 489-490.
213. Sabiston, D.C. Textbook of Surgery (14th ed.) / D.C. Sabiston. – Philadelphia: Saunders, 1991. – 234p.
214. Salem, N. Ozone Therapy in Ethidium Bromide-Induced Demyelination in Rats: Possible Protective Effect / N. Salem, N. Assaf, M. Ismail et al. // *Cellular and molecular neurobiology*. – 2016. – Vol. 36, № 6. – P. 943-954.
215. Saraf , M.K. Morphological Changes in Subcutaneous White Adipose Tissue After Severe Burn Injury / M.K. Saraf, D.N. Herndon, C. Porter et al. // *J Burn Care Res*. – 2016. – Vol. 37, № 2. – P. e96–103.
216. Sayeed, M.M. Neutrophil signaling alteration: an adverse inflammatory response after burn shock / M.M. Sayeed // *Medicina (B Aires)*. – 1998. – Vol. 58, № 4. – P. 386-392.
217. Sayers, B.M. Analysis of heart rate variability / B.M. Sayers // *Ergonomics*. – 1973. – № 16. – P. 17-32.
218. Schilter, D. Thiol oxidation: A slippery slope / D. Schilter // *Nat. Rev. Chem*. – 2017. – № 1. – P. 0013-0029.
219. Schmid – Schonbein, H. Active and passive modulation of cutaneous red cell

- flux as measured by Laser Doppler anemometry / H. Schmid – Schonbein, S. Zied, W. Rutten, H. Heidtmann // VASA. – 1992. – № 34. – P. 38-47.
220. Schmid – Schonbein, H. Synergetic Interpretation of Patterned Vasomotor Activity in Microvascular Perfusion: Discrete Effects of Myogenic and Neurogenic Vasoconstriction as well as Arterial and Venous Pressure Fluctuations / H. Schmid – Schonbein, S. Ziege, R. Grebe et al. // Int J. Microcir. – 1997. – № 17. – P. 346-359.
221. Schwartz-Tapia, A. Ozone conditioning effect / A. Schwartz-Tapia, G. Martínez-Sánchez, F. Sabah et al. // Madrid Declaration on Ozone Therapy, 2nd ed. – Madrid: International Scientific Committee of Ozone Therapy, 2015. – P. 50.
222. Seyam, O. Clinical utility of ozone therapy for musculoskeletal disorders / O. Seyam, N.L. Smith, I. Reid // Medical Gas Research. – 2018. – Vol. 8, № 3. – P. 103-110.
223. Sharma, V.K. Oxidation of amino acids, peptides and proteins by ozone: A review / V.K. Sharma, N.J.D. Graham // Ozone Sci. Engineer. – 2010. – № 32. – P. 81-90.
224. Simonetti, V. Ozone Exerts Cytoprotective and Anti-Inflammatory Effects in Cardiomyocytes and Skin Fibroblasts after Incubation with Doxorubicin / V. Simonetti, V. Quagliariello, M. Franzini et al. // Evid Based Complement Alternat Med. – 2019. – № 2019. – P. 2169103.
225. Smith, N.L. Ozone therapy: an overview of pharmacodynamics, current research, and clinical utility / N.L. Smith, A. Wilson, J. Gandhi et al. // Medical gas research. – 2017. – Vol. 7, № 3. – P. 212.
226. Somay, H. The Histological Effects of Ozone Therapy on Sciatic Nerve Crush Injury in Rats / H. Somay, S.T. Emon, S. Uslu et al. // World Neurosurgery. – 2017. – № 105. – P. 702-708.
227. Stefanovska, A. Physics of the human cardiovascular system / A. Stefanovska, M. Bracic // Contemporary Physics. – 1999. – Vol. 40, № 1. – P. 31-35.
228. Strudwick, K. Review article: best practice management of low back pain in the emergency department (part 1 of the musculoskeletal injuries rapid review

- series) / K. Strudwick, M. McPhee, A. Bell et al. // *Emerg Med Australas.* – 2018. – Vol. 30, № 1. – P. 18-35.
229. Tarpy, S.P. Long-term oxygen therapy / S.P. Tarpy, B.R. Celli // *Engl J Med.* – 1995. – Vol. 333, № 11. – P. 710–714.
230. Heart Rate Variability: Standarts of measurements, Physiological Interpretation and Clinical Use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophisiology // *Circulation.* – 1996. – Vol. 93, № 5. – P. 1043-1065.
231. Tejero, J. Sources of vascular nitric oxide and reactive oxygen spe-cies and their regulation / J. Tejero, S. Shiva, M.T. Gladwin // *Physiol Rev.* – 2019. – № 99. – P. 311–379.
232. Tenland, T. On Laser Doppler Flowmetry. Methods and Microvascular Application / T. Tenland. – Vimmerby: Printed in Sweden by VTT-Gafiska, 1982. – 125p.
233. Tezcan, A.H. The beneficial effects of ozone therapy in acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice / A.H. Tezcan, O. Ozturk, S. Ustebay et al. // *Pharmacol Rep.* – 2018. – Vol. 70, № 2. – P. 340-345.
234. Travagli, V. The Biological and Molecular Action of Ozone and Its Derivatives: State-of-the-Art, Enhanced Scenarios, and Quality Insights / V. Travagli, E.L. Iorio // *Int. J. Mol. Sci.* – 2023. – № 24. – P. 8465-8481.
235. Tricarico, G. The relationship between ozone and human blood in the course of a well-controlled, mild, and transitory oxidative eustress / G. Tricarico, V. Travagli // *Antioxidants.* – 2021. – № 10. – P. 1946-1963.
236. Tafani, M. The interplay of reactive oxygen species, hypoxia, inflammation, and sirtuins in cancer initiation and progression / M. Tafani, L. Sansone, F. Limana et al. // *Oxid Med Cell Longev.* – 2016. – № 2016. – P. 3907147.
237. Tural, E. Effects of Ozone on Spinal Cord Recovery via the Wnt/beta-Catenin Pathway Following Spinal Cord Injury in Rats / E. Tural, S. Uslu, A. Ilgaz et al. // *Turkish neurosurgery.* – 2017. – Vol. 27, № 6. – P. 946-951.
238. Uno, K. Biomarkers of inflammation and oxidative stress in

- atherosclerosis / K. Uno, S.J. Nicholls // *Biomark. Med.* 2010. – Vol. 4, №3. – P. 361–373.
239. Vanin, A.F. Prospects of designing medicines with diverse therapeutic activity on the basis of dinitrosyl iron complexes with thiol-containing ligands / A.F. Vanin, E.I. Chazov // *Biophysics.* – 2011. – Vol. 56, №2. – P. 268-275.
240. Viebahn-Haensler, R. Systemic ozone applications, Major autohemotherapy and Rectal Insufflation, evaluated according to the International classification of Evidence-Based Medicine. A new basis for reimbursement of medical expenses by private and social insurances / R. Viebahn-Haensler, O. Leon-Fernandez, Z. Fahmy // *Journal of Ozone Therapy.* – 2019. – № 3. – P. 1-13.
241. Voronkova, Yu. Oxidative stress, reactive oxygen species, antioxidants: a review / Yu. Voronkova, O. Voronkova, V. Gorban, K. Holoborodko // *Ecology and Noospherology.* – 2018. – № 29. – P. 52-55.
242. Wang, L. The protective effect of ozone oxidative preconditioning against hypoxia/reoxygenation injury in rat kidney cells / L. Wang, H. Chen, X.H. Liu et al. // *Ren Fail.* – 2014. – Vol. 36, № 9. – P. 1449–1454.
243. Wang, L. Ozone oxidative preconditioning inhibits renal fibrosis induced by ischemia and reperfusion injury in rats / L. Wang, H. Chen, X.H. Liu et al. // *Exp Ther Med.* – 2014. – Vol. 8, № 6. – P. 1764-1768.
244. Wang, H. Differential removal of human pathogenic viruses from sewage by conventional and ozone treatments / H. Wang, P. Sikora, C. Rutgersson // *Int J Hyg Environ Health.* – 2018. – Vol. 221, № 3. – P. 479-488.
245. Winterbourn, C.C. Hydrogen peroxide reactivity and specificity in thiol-based cell signaling / C.C. Winterbourn // *Biochem. Soc. Trans.* – 2020. – № 48. – P. 745–754.
246. Wolf, M. Sinus arrhythmia in acute myocardial infarction / M.M. Wolf, G.A. Varigos, D. Hunt, J.G. Sloman // *Med J Australia.* – 1978. – № 2. – P. 52-53.
247. Wolf, C. Kinetics of Inactivation of Waterborne Enteric Viruses by Ozone / C. Wolf, U. von Gunten, T. Kohn // *Environ Sci Technol.* – 2018. – Vol. 52, № 4. – P. 2170-2177.

248. Wright, A. Quantification of the Ozone Dose Delivered into a Liquid by Indirect Plasma Treatments: Method and Calibration of the Pittsburgh Green Fluorescence Probe / A. Wright, J. Fuster, H. Bandulasena et al. // Plasma chemistry and plasma processing. – 2018. – Vol. 38, № 6. – P. 1169-1179.
249. Wu, M.Y. Therapeutic dosage of ozone inhibits autophagy and apoptosis of nerve roots in a chemically induced radiculoneuritis rat model / M.Y. Wu, C.Y. Xing, J.N. Wang et al. // European Review for Medical and Pharmacological Sciences. – 2018. – Vol. 22, № 6. – P. 1787-1797.
250. Yakhno, T. Protein phase instability developed in plasma of sick patients: clinical observations and model experiments / T. Yakhno // Natural Science. – 2010. – № 3. – P. 220-227.
251. Yin, H. Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis / H. Yin, L. Xu, N.A. Porter // Chem. Rev. – 2011. – Vol. 111, № 10. – P. 5944–5972.
252. Yoshikawa, T. Free radicals in digestive diseases / T. Yoshikawa, M. Kondo // Nihon Ronen Igakkai Zasshi. – 1990. – Vol. 27, № 2. – P. 155-160.
253. Yu, L. Does ozone autohemotherapy have positive effect on neurologic recovery in spontaneous spinal epidural hematoma? / L. Yu, X. Lu, H. Shi et al. // American journal of emergency medicine. – 2014. – Vol. 32, № 8. – P.949-957.
254. Yu, M. Gardenoside combined with ozone inhibits the expression of P2X3 and P2X7 purine receptors in rats with sciatic nerve injury / M. Yu, Y. Zhao, X. Zhang // Molecular Medicine Reports. – 2018. – Vol. 17, № 6. – P. 7980-7986.
255. Zaky, S. The effect of rectal ozone on the portal vein oxygenation and pharmacokinetics of propranolol in liver cirrhosis (a preliminary human study) / S. Zaky, E.A. Fouad, HIM Kotb // British Journal of Clinical Pharmacology. – 2011. – Vol. 71, № 3. – P. 411-415.
256. Zhang, H. Effects of ozone treatment on the antioxidant capacity of postharvest strawberry / H. Zhang, K. Li, X. Zhang et al. // RSC Adv. – 2020. – № 10. – P. 38142–38157.
257. Zhou, N.B. Effects of different concentrations of oxygen-ozone on rats' astrocytes in vitro / N.B. Zhou, Z.J. Fu, T. Sun // Neurosci Lett. – 2008. – Vol. 441,

№ 2. – P. 178–182.