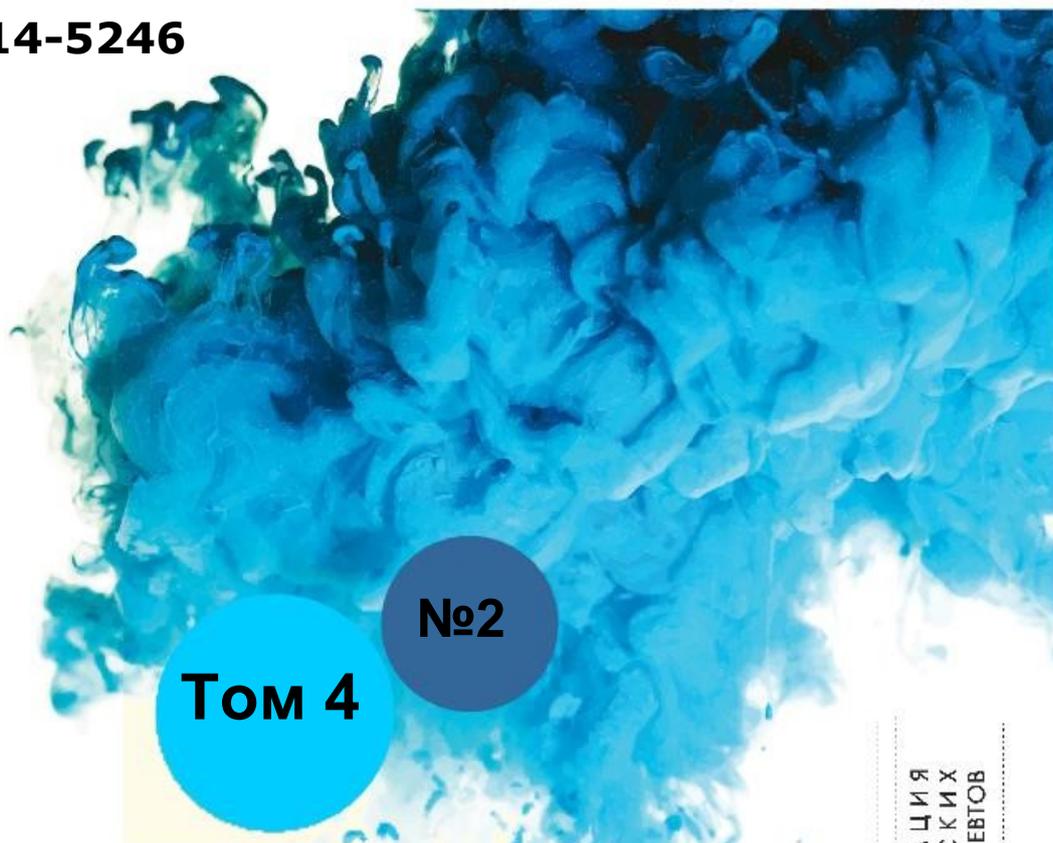
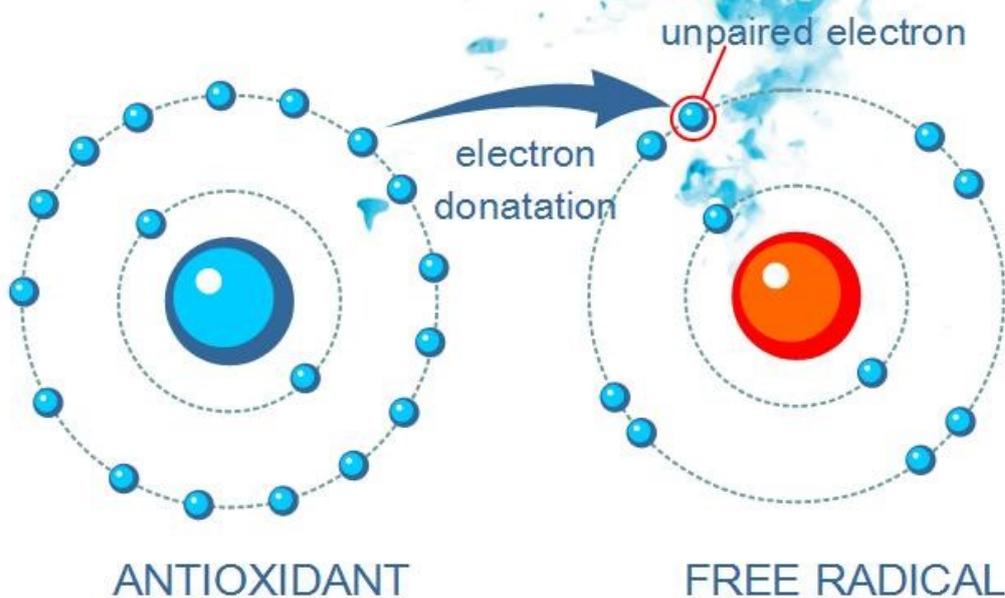


ISSN 2414-5246



Том 4

№2



АССОЦИАЦИЯ
РОССИЙСКИХ
ОЗОНОТЕРАПЕВТОВ



БИОРАДИКАЛЫ И
АНТИОКСИДАНТЫ

2017



**АССОЦИАЦИЯ
РОССИЙСКИХ
ОЗОНОТЕРАПЕВТОВ**

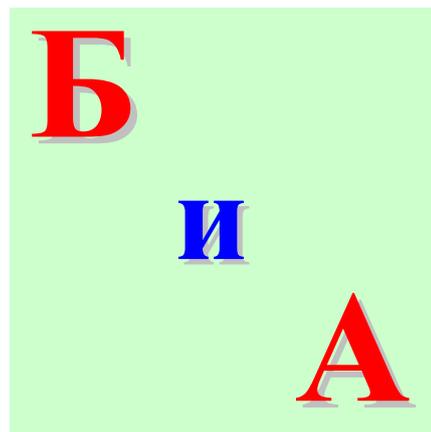
Гл. редактор – д.м.н., проф. С.П. Перетягин
Зам. гл. редактора – д.б.н. А.К. Мартусевич
Отв. секретарь – к.б.н. А.Г. Соловьева
Зав. редакцией – А.А. Мартусевич

Международный редакционный совет:

Lamberto Re (Италия)
Gregorio Martinez-Sanchez (Италия)
Nurettin Luleci (Турция)
Renate Viebahn-Haensler (Германия)
С.А. Беляев (Германия)
А.Ф. Ванин (Россия)
В.В. Зинчук (Белоруссия)
А.Г. Куликов (Россия)
А.Д. Лелянов (Россия)
Е.И. Назаров (Украина)
И.Н. Попов (Германия)
В.Д. Селемир (Россия)
Р.Р. Фархутдинов (Россия)

Редакционная коллегия:

А.В. Алясова, д.м.н., проф. (Н.Новгород)
А.Н. Беляев, д.м.н., проф. (Саранск)
О.А. Биткина, д.м.н. (Н.Новгород)
Е.Л. Бойко, д.м.н., проф. (Иваново)
Г.А. Бояринов, д.м.н., проф. (Н.Новгород)
Н.Ю. Векслер, д.м.н. (Москва)
В.И. Гибалов, д.ф.-м.н., проф. (Москва)
Г.О. Гречканев, д.м.н., проф. (Н.Новгород)
С.В. Гусакова, д.б.н., проф. (Томск)
В.Т. Долгих, д.м.н., проф. (Омск)
Е.А. Дурново, д.м.н., проф. (Н.Новгород)
В.И. Инчина, д.м.н., проф. (Саранск)
В.И. Карелин, д.ф.-м.н., проф. (Саров)
Р.Г. Каримова, д.б.н. (Казань)
К.Н. Конторщикова, д.б.н., проф. (Н.Новгород)
И.В. Кошелева, д.м.н. проф. (Москва)
В.А. Кудрявцев, к.ф.-м.н. (Киров)
П.П. Кузьмичев, д.м.н., проф. (Хабаровск)
Н.Б. Мельникова, д.х.н., проф. (Н.Новгород)
И.Я. Моисеева, д.м.н., проф. (Пенза)
И.В. Мухина, д.б.н., проф. (Н.Новгород)
А.А. Тимошин, д.б.н. (Москва)
В.Ю. Титов, д.б.н., проф. (Москва)
К.Б. Шумаев, д.б.н. (Москва)
С.В.Якимов, д.м.н., проф. (Красноярск)



**Том 4, №2
2017**

Издание зарегистрировано
Федеральной службой по надзору
в сфере связи, информационных
технологий и массовых
коммуникаций

Свидетельство о регистрации
средства массовой информации
Эл № ФС77-57345
от 17 марта 2014 г.

Учредитель – Ассоциация
российских озонотерапевтов

Адрес редакции:
603089, г. Н. Новгород,
ул. Б. Панина, д. 9

Телефоны:
8-909-144-91-82
8-910-391-79-98

e-mail: cryst-mart@yandex.ru
psp_aro@mail.ru

Internet: www.ozonotherapy.ru

Все права защищены. Любое
воспроизведение опубликованных
материалов без письменного
согласия редакции не допускается
При перепечатке ссылка на
журнал обязательна

СОДЕРЖАНИЕ

Миика Саллинен EARLY HISTORY OF OZONE THERAPIES	7
---	---

РАЗДЕЛ I. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ ИЗУЧЕНИЯ ЭФФЕКТОВ ПРИМЕНЕНИЯ МЕДИЦИНСКИХ ГАЗОВ

Е.И. Назаров, Т.А. Глухенькая АДАПТАЦИОННЫЙ ПОДХОД К МЕХАНИЗМУ СИСТЕМНОЙ ТЕРАПИИ МЕДИЦИНСКИМИ ГАЗАМИ - ОЗОНОМ, КСЕНОНОМ И ВОДОРОДОМ	12
---	----

К.Н. Конторщикова, А.В. Алясова, И.Г. Терентьев, С.Н. Цыбусов, К.А. Шахова, Е.С. Макарова, С.П. Перетягин ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ ДЕЙСТВИЯ ОЗОНА НА ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫЕ КЛЕТКИ	20
---	----

Arzu Irban EFFECTS OF OZONE ON SPINAL CORD RECOVERY FOLLOWING SPINAL CORD INJURY	24
--	----

В.Д. Зинченко, К.Н. Головина, А.Н. Кириенко, И.И. Топчий ОЗОН-ИНДУЦИРОВАННАЯ ГЕНЕРАЦИЯ СИНГЛЕТНОГО КИСЛОРОДА В ПЛАЗМЕ КРОВИ	32
---	----

В.Ю. Титов, А.М. Долгорукова, А.Н. Осипов ПРЕДПОЛАГАЕМЫЙ МЕХАНИЗМ СПЕЦИФИЧНОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ОКСИДА АЗОТА С ФИЗИОЛОГИЧЕСКИМИ МИШЕНЯМИ	36
---	----

Е.И. Сокол, Т.М. Бархоткина, Т.В. Бернадская, Р.С. Томашевский, Д.А. Долинин 3D МОРФОЛОГИЯ ЭРИТОРОЦИТОВ КАК УНИВЕРСАЛЬНЫЙ ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ И ПРОГНОСТИЧЕСКИЙ КРИТЕРИЙ	40
---	----

РАЗДЕЛ II. КЛИНИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ ОЗОНОТЕРАПИИ В КЛИНИКЕ ВНУТРЕННИХ БОЛЕЗНЕЙ, НЕВРОЛОГИИ, ХИРУРГИИ, ТРАНСФУЗИОЛОГИИ

Е.И. Сычева ПРИМЕНЕНИЕ ОЗОНОТЕРАПИИ И УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА В ПРОФИЛАКТИКЕ И ЛЕЧЕНИИ ИБС	44
---	----

О.В. Масленников, М.В. Ведунова, И.А. Грибкова ПРИМЕНЕНИЕ ОЗОНОТЕРАПИИ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ, АССОЦИИРОВАННЫХ С АТЕРОСКЛЕРОЗОМ	48
---	----

Г.В. Титова О ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ СИСТЕМНОЙ ОЗОНОТЕРАПИИ ПРИ ПЕЧЁНОЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ	52
О.В. Лапшина, А.В. Густов, К.Н. Конторщикова, А.В. Баранова ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ОЗОНОТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ МИАСТЕНИЕЙ	54
И.Л. Довгий ОЗОНОТЕРАПИЯ И АКУПУНКТУРА В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ САХАРНОГО ДИАБЕТА И ЕГО ОСЛОЖНЕНИЙ	59
Gautam Shah LUMBAR DISC HERNIATION TREATMENT WITH INTRADISCAL OZONE THERAPY IN THE INDIAN SCENARIO	69

**АЗИАТСКО-ЕВРОПЕЙСКИЙ СОЮЗ ОЗОНОТЕРАПЕВТОВ И
ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ МЕДОБОРУДОВАНИЯ**

**МАТЕРИАЛЫ
VII АЗИАТСКО –ЕВРОПЕЙСКОЙ
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ
«ОЗОН И ДРУГИЕ МЕДИЦИНСКИЕ ГАЗЫ
В БИОЛОГИИ И ТЕРАПИИ»**

Часть 1

26 - 28 мая 2017 года

Ответственный редактор:

Назаров Е.И., д.т.н., профессор (Одесса, Украина)

Редакционная коллегия:

Бояринов Г.А., д.м.н., профессор (Н. Новгород, Россия),

Конторщикова К.Н., д.б.н., профессор (Н.Новгород, Россия),

Масленников О.В., д.м.н., профессор (Н.Новгород, Россия).

Тбилиси, 2017

Глубокоуважаемые участники
VII Азиатско - Европейской научно-практической конференции
с международным участием
«Озон и другие медицинские газы в биологии и терапии»!

Настоящая конференция является седьмой в ряду проводимых нашей ассоциацией конференций. Как видно из названия, тематика конференции расширена добавлением докладов по применению в медицине других медицинских газов – водорода, оксида азота и инертных газов. Причина этого состоит как в сходстве спектра фармакологической активности названных газов, так и в определенном подобии механизма действия. Целью проведения всех конференций является обоснование, становление и внедрение в практическое здравоохранение новых медицинских технологий. За эти годы была проведена большая экспериментальная и клиническая научно-исследовательская работа по обоснованию безопасности и эффективности использования озона и других медицинских газов в терапевтических целях. Накоплен определённый опыт практического использования озона, водорода при различных нозологиях. Результатом тесного международного сотрудничества учёных и врачей, явилось быстро прогрессирующее развитие и внедрение технологии озонотерапии в практическое здравоохранение. За последние годы немедикаментозные методы лечения неуклонно продвигаются вперед как в области фундаментальных знаний, так и в прикладном направлении, отмечается значительный прогресс в разработке новых и совершенствовании уже известных методик. Совершенствуется и оборудование, используемое для реализации методик, повышается его надежность. Накоплен большой опыт по применению медицинских газов в онкологии, педиатрии, хирургии, терапии и косметологии. Но есть необходимость чёткой алгоритмизации и стандартизации проведения курсов лечения с помощью медицинских газов и сочетания их со стандартными протоколами лечения.

Главными вопросами, которые выносятся для обсуждения на данную конференцию, по-прежнему остаются экспериментальные, клинические и технические разработки по применению медицинских газов. Мы надеемся, что тематика этой конференции не только расширит возможности практикующих врачей, исследователей, производителей оборудования, но и послужат толчком к использованию медицинских газов в медицине.

Оргкомитет конференции

Miika Sallinen

EARLY HISTORY OF OZONE THERAPIES

White Swan Health & Beauty

Koivupurontie 9, 40320 Jyväskylä, Finland

Early history of ozone therapies and early pioneers are not well known. Various authors has found old articles and mentioned them in later publications. However, all of these have been more or less incomplete. In this paper is collected information about early scientific papers from 1859 to Second World War before modern ozone therapy began.

In 1785, the Dutch chemist Martinus van Marum noticed an unusual smell, which he attributed to the electrical reactions, but he never realised the fact that he was actually created ozone. More than century later, Christian Friedrich Schönbein noticed the same pungent odour and he succeeded in isolating the gaseous chemical and named it "ozone". For this reason, Schönbein is generally credited with the discovery of ozone. The formula for ozone, O₃, was not determined until 1865 by Jacques-Louis Soret and confirmed by Schönbein in 1867.

Thus it's surprising to know that first papers about the medical use of ozone were published in a time when it was not even known that ozone is triatomic oxygen. British doctor Theophilus Thompson obtained "ozonated cod liver" oil and reported how the pulse of several patients reduced after its administration. Only two years later his son E. Symes Thompson made similar observations using "ozonized water". In both articles it's unclear whether they ever used ozone itself. In first article is mentioned that ozonized was made saturating cod liver oil with oxygen and then exposed to direct sunlight. Thus it was perhaps not ozonized, but probably had significant amount of peroxides and other oxidation products which can be found in real ozonized oils too. This method is not suitable for preparing ozonized water which is mentioned in second article. Younger Thompson mentioned Dr. Andrews, who showed that ozone was an allotropic form of oxygen. Thus it is possible that he used real ozone, but naturally all doses and other details remains unknown.

Real confirmed ozone therapies started about half century later. One of the first pioneers was British

Doctor George Stoker. On 1902 he reported about his experience of ozone ear injections to treat various middle ear diseases. Some years later (1908) he reported a case report of patient whose cavity of the lung was successfully treated with ozone. However, his most remarkable reports are during the First World War, when he used ozone in the treatment of war wounds and made two reports consisting total 79 patients (Stoker 1916, 1917). Most of those patients healed within few weeks.

Stoker was not the only doctor who used ozone in war injuries during the First World War. German doctor Albert Wolff used it too. He did not perform only external application, but used rectal

ozone treatments too (Wolf 1915, 1920). French doctors René Guyot and C.-M Roques (1916) reported about their experiences of treating war wounds with ozonated saline solution. Furthermore, in much later article J. R. Quain (1940) tells about Canadian military doctors J. R. Patterson and A. W. MacBeth who made a report in April 1919 of 16 war wound cases treated by external ozone applications.

Before war there appeared at least one report which is worth of mention. Doctor Frank M. Lessing (1913) wrote how he treated dysentery by washing the large intestine by ozonated water. This is probably first mention about intrarectal ozone application ever.

Next decade appeared to be fruitless in ozone therapy field. Then everything changes and ozone gained popularity everywhere around Europe. First British doctors Oscar Parkes and C. H. Buckley (1931) reported their experiences using ozone in various patient using not only external applications for wounds and infections, but also ozone injections for neuritis, arthritis and sciatica. Also Argentinean doctor T. A. Chamorro reported his experiences on the use of ozone in intra-articular way as well as external ozone applications in the treatment of osteomyelitis. Personally I have not seen his articles, but those are mentioned in classic book “The Use of Ozone in Medicine” by Siegfried Rilling and Renate Viebahn (1987).

Another very notable ozone therapist was French doctor Paul Aubourg. He was a surgeon who performed various surgical operations and used ozone especially in the treatment of fistulae and wounds. He also made extensive works with rectal ozone applications treating several types of diseases. He wrote several scientific articles although I've been able to find only two of them (Aubourg 1938, 1939).

Most important ozone therapists during those days worked in German-speaking world. Swiss doctor R. Allemann (1934) reported five case reports of using ozone in infected badly healing wounds. One of the most notable ozone therapists was Austrian professor Erwin Payr. He used various ozone therapy methods. He was also the first doctor who used ozone intravenously (Payr 1935) although he performed direct IV injections which are now considered risky procedures and prohibited or at least not recommended by modern scientific ozone therapy associations.

Both these notable ozone therapists get their awareness about ozone from Swiss dentist E. A. Fisch. Dr. Fisch used ozone in the treatment of various dental problems, like otitis, periodontitis, granulomas and gangrenes (Fisch 1936a-d, 1948). He wrote several articles in various journals and was real pioneer in the use of ozone in medicine – not only in dentistry. He participated in several conferences and spread a word. Contemporaneously some other notable dentists began to use ozone too. Dr. Karl Bär from Zürich reported 17 case reports of patients treated by ozone. They had granulomas or gangrene and most patients more than one. Ozone was excellent disinfectant and also significantly contributed the healing process. Dr. Martiny from Stuttgart used similar Cytozon-device

as Dr. Fisch. He also reported ten case reports of patients with gingival and other oral problems successfully treated by ozone injections, but wrote another article too describing ozone treatments in general (Martiny 1937ab). Another German dentist Hermann Meyer used ozone in the treatment of periodontitis and other oral diseases. He also wrote intensive reports about devices, technique, theory as well as several cases which were successfully treated by ozone (Meyer 1938ab). During same time also Dutch dentist H. K. Michaëlis (1938) also reported his technique of using ozone in dental patients.

Ozonated oils were also invented very early. In USA there was already 1904 a product called Glycozone which was a mixture of glycerin and hydrogen peroxide, and it's considered to be some kind of predecessor of ozonated oils. Japanese chemist Taichi Harada demonstrated antifungal properties of ozonated olive oil on 1934 and only two years later Franklin J. Stevens reported how it's antimicrobial for several bacteria too. First scientific report on the use of ozonated oil in clinical practice appeared few years later (Greenberger & Helfert 1941).

I can conclude that all bases for modern ozone therapies were established before World War II. Unfortunately many clinics were destroyed during war which caused some backlash. Devices, techniques, basic knowledge and experience existed. When materials were developed further, ozone generators became more durable and widely available and modern era of ozone therapy begin by small steps. Many early pioneers mentioned in this article were forgotten or ignored for a long time, but their important work made a basis for those treatments what ozone therapists around the world are using today.

References

1. Allemann, R., Zur Ozonbehandlung großer, schlecht heilender Wunden // Zentralblatt für Chirurgie. 1934. Vol. 25. P. 1461-1464.
2. Aubourg P. Cas de Colibacillose Traités par L'ozone // Presse Medicale 1938. Vol. 103. P. 1897-1900.
3. Aubourg P. L'ozone en Chirurgie // Memoires de l'academie de Chirurgie. 1939. Vol. 65. P. 1183-1192.
4. Bär K. Die Behandlung der Pulpagangrän und Zahnwunzelgranulome mit Ozon in Kombination mit der Walkhoffschen Vorbehandlung // Schweizerische Monatsschrift für Zahnheilkunde. 1935. Vol. 45, N8. P. 669-705,.
5. Fisch E.-A. L'ozone en médecine dentaire comme nouveau moyen de thérapeutique // Revue Odontologique 1936, Vol. 57. P. 619-638 (a).
6. Fisch E.-A. Ueber Anwendung von ozon in der Stomatologie, als wirksames Mittel einer neuzeitlichen Therapie // Deutsche Zahnärztliche Wochenschrift. 1936. Vol. 40. P. 943-946 (b).

7. Fisch, E. A., Ueber Anwendung von ozon in der Stomatologie, als wirksames Mittel einer neuzeitlichen Therapie // *Deutsche Zahnärztliche Wochenschrift* **41**: 971-974, 1936c.
8. Fisch, E. A., Ueber Ozonbehandlung in der Zahnheilkunde. *Zahnärztliche Rundschau* Nr. 22, 952-958, 1936d.
9. Fisch, E. A., Meine Erfahrungen mit der Ozon-Behandlung gangränöser Zähne. *Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift* **3**(3/4): 105-129, 1948.
10. Greenberger, Monroe E. & Irving Helfert, Healing of tuberculous nephrectomy sinuses. *American Journal of Surgery* **51**(2): 396-398, 1941.
11. Guyot, René & C. -M. Roques, L'eau de mer isotonique ozonisée pour le pansement des plaies de guerre. Un nouvel ozoneur. *Comptes rendus des séances de la Société de biologie et de ses filiales* **79**: 289-290, 1916.
12. Harada, Taichi, Olive oil ozonide and its fungicidal quality. *Bulletin of the Chemical Society of Japan* **9**: 192-197, 1934.
13. Lessing, Frank M., Note on ozone in the treatment of dysentery. *Lancet* **II**(Nov 1.): 1255, 1913.
14. Martiny, Cytozon in der Parodontosetherapie. *Deutsche Zahnärztliche Wochenschrift* Nr. 6, 122-123, 1937a.
15. Martiny, Über die Behandlung dentaler Infektion mit Ozon. *Zahnärztliche Rundschau* Nr. 27, 1175-1176, 1937b.
16. Meyer, Hermann, Ueber Ozon und seine therapeutische Verwendung in der Zahnheilkunde. *Deutsche Zahnärztliche Wochenschrift* Nr. 16, 367-371, 1938a.
17. Meyer, Hermann, Ueber Ozon und seine therapeutische Verwendung in der Zahnheilkunde. *Deutsche Zahnärztliche Wochenschrift* Nr. 17, 398-403, 1938b.
18. Michaëlis, H. K., Saug und Ozontherapie bei der Behandlung von Parodontose und Wurzelkanälen. *Deutsche Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde* **5**(6): 393-398, 1938.
19. Parkes, Oscar & C. H. Buckley, Treatment by Octozone. *Lancet* **II**(Oct 7): 849-850, 1931.
20. Payr, E., Ueber Ozonbehandlung in der Chirurgie. *Münchener Medizinische Wochenschrift* **82**: 857-860, 1935.
21. Quain, J. R., Ozone treatment of wounds. *Lancet* **I**(June 1.): 1028-1029, 1940.
22. Rilling, Siegfried & Renate Viebahn, *The Use of Ozone in Medicine*. Karl F. Haug Publishers, Heidelberg, 1987.
23. Stevens, Franklin A., The Bactericidal and Photochemical Properties of Irradiated Cod Liver Oil and an Ozonide of Olive Oil. *Journal of Bacteriology* **32**: 47-56, 1936.

24. Stoker, George, Ozone in chronic middle-ear deafness. *Lancet* **II**(Nov. 1.): 1187-1188, 1902.
25. Stoker, George, A case of cavity of the lung successfully treated with ozone. *Lancet* **I**(April 18.): 1148-1149, 1908.
26. Stoker, George, The Surgical Uses of Ozone. *Lancet* **II** (Oct. 21): 712, 1916.
27. Stoker, George, The Surgical Uses of Ozone. *Lancet* **I** (May 26): 797, 1917.
28. Thompson, Symes E., On the influence of ozonized cod-liver oil on the pulse. *Lancet* (March 9), 239, 1861.
29. Thompson, Theophilus, Observations of the Medical Administrations of Ozonized Oils. *Medico-Chirurgical Transactions* **42**: 349-360, 1859.
30. Wolff, Albert, Eine medizinische verwendbarkeit des ozons. *Deutsche Medizinische Wochenschrift* (1915), 311-312, 1915.
31. Wolff, Albert, Ozon in der Wundbehandlung. *Berliner Klinische Wochenschrift* 1920 nr. 33, 785-786, 1920.

РАЗДЕЛ I. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ ИЗУЧЕНИЯ ЭФФЕКТОВ ПРИМЕНЕНИЯ МЕДИЦИНСКИХ ГАЗОВ

Е.И. Назаров, Т.А. Глухенькая

АДАПТАЦИОННЫЙ ПОДХОД К МЕХАНИЗМУ СИСТЕМНОЙ ТЕРАПИИ МЕДИЦИНСКИМИ ГАЗАМИ - ОЗОНОМ, КСЕНОНОМ И ВОДОРОДОМ

Азиатско-Европейский союз озонотерапевтов и производителей оборудования для озонотерапии, Одесса, Украина

В работе изложены основные положения адаптационной гипотезы механизма терапевтической активности медицинских газов – озона, ксенона и водорода. Изложены результаты пилотного исследования влияния названных газов на динамику напряженности и типа адаптационных реакций пациентов рассчитанных с помощью программы ОЗ-Навигатор. Сделан вывод о том, что в основе долгосрочного терапевтического эффекта курса озонотерапии лежит нормотропная реакция неспецифической адаптационной системы организма. Предлагается новая тактика системной озонотерапии, которая основанна на анализе эффективности курса по динамике лейкоформулы.

Ключевые слова: медицинские газы, механизм действия, озон, ксенон, водород

The paper outlines the basic assumptions of adaptive hypothesis of therapeutic activity of medical gases - ozone, xenon and hydrogen when administered systemically. The results of the pilot study the influence of these gases on the dynamics of the tension and the type of adaptive reactions of patients calculated using O3Navigator program. It is concluded that the basis for a long-term therapeutic effect of ozone therapy course is normo tropic reaction of nonspecific adaptation system of the body. Authors proposed new tactic of systemic ozone therapy which based on an analysis of the influence of the course of procedures on the dynamics of leucocyte formula of patients.

Key words: medical gases, mechanism of action, ozone, xenone, hydrogen

Мягкий окислительный стресс и последующая активация антиоксидантной системы организма является основой мирового консенсуса о механизме действия озона на организм. Однако, если сказать откровенно, эта концепция практически ничего не дает практическому врачу. В этом легко убедиться, если проанализировать практику врача озонотерапевта имеющего 20-25 летний стаж работы. Легко видеть, полное отсутствие прогресса, по крайней мере, в части касающейся системной озонотерапии. По сути, практика врача озонотерапевта, построена на интуиции и эмпирических находках отечественных и зарубежных пионеров

озонотерапии второй половины XX века. Очевидно, что преодоление явного тупика в развитии теории озонотерапии следует искать в конкуренции новых подходов к пониманию сущности процессов обеспечивающих благотворное влияние озона на организм.

Нами предложен и прошел практическую апробацию адаптационный подход к механизму системного действия озона. В основе адаптационного подхода лежит предложенная нами гипотеза о том, что терапевтическое действие озона возникает в результате реакции адаптационной системы, которая базируется на нейрогуморальной системе гомеостаза организма. Основанием для данной гипотезы является:

- чрезвычайно широкий спектр терапевтической активности озона, что может иметь место только при воздействии на интегрирующие системы организма;

- чрезвычайно низкие дозы озона, используемые в озонотерапии (ЕД50 ~ 1-10 мкг/кг), при отсутствии специфических рецепторов, что свидетельствует о сигнальном характере физиологического действия:

- неизменно нормотропное действие озонотерапии (повышенные значения любых жизненно важных параметров организма снижаются, а пониженные повышаются),

- наличие периодов улучшения-ухудшения состояния пациентов в процессе курса озонотерапии, которое указывает на активацию озоном интегрирующей системы охваченной положительными и отрицательными обратными связями;

- наличие строго определенного и не зависящего от нозологической формы, периода ремиссии (4-5 месяцев) после завершения курса озонотерапии, что говорит о вовлеченности интегральных систем организма обеспечивающих терапевтическое действие озона;

- неопределенность психоэмоционального состояния пациентов после завершения курса процедур озонотерапии (от психоэмоционального подъема до сонливости и апатии), что указывает на вовлеченность промежуточного мозга в реализации эффектов озона.

Все названные особенности озона, как терапевтического агента, не характерны для традиционных лекарственных препаратов. В то же время, такой фармакологический профиль типичен для веществ объединенных общим названием – адаптогены. Механизм работы адаптогенов состоит в активации гипоталамо-гипофизарного звена нейрогуморальной системы гомеостаза. Если рассматривать болезнь как отклонение от нормы, то вызванное адаптогеном возвращение к норме следует расценивать как терапевтический эффект. Естественно, что конкретное выражение терапевтического эффекта зависит от характера заболеваний, которым страдает пациент. Однако, активируемая адаптогеном нейрогуморальная система может развить любой вид фармакологического эффекта путем изменения уровня соответствующих гормонов.

Например:

- вазодилаторный эффект: гормоны гипофиза – адренкортикотропный, тиреотропный, соматотропный, альдостерон; гормоны гипоталамуса – вазопрессин, антидиуретический гормон;

- иммуномодулирующий эффект: гормоны гипофиза - тиреотропин, соматотропин, аргинин-вазопрессин и окситоцин;
- противовоспалительный эффект: кортикостероиды
- антигипоксический эффект: аргинин-вазопрессин
- детоксикационный и антиоксидантный эффект: тиреоидные гормоны, кортикостероиды.
- психоэмоциональный подъем: эндорфины.

Таким образом, квалификация озона в низких дозах как адаптогена создает предпосылки для объяснения основных особенностей его фармакологического профиля. Для проверки гипотезы об адаптогенном действии озона необходимо проверить – сопровождается ли успешный курс озонотерапии гомеостатическим эффектом. Так как гомеостаз явление универсальное, то в качестве показателя гомеостатического действия можно выбрать любой жизненно важный показатель состояния организма. В качестве такового нами выбраны хорошо изученные и легкодоступные параметры белой крови. Дополнительным достоинством выбранного параметра является известная чувствительность уровня лейкоцитов крови к гормональному статусу организма, а значит к активности нейрогуморальной системы гомеостаза.

Нами разработана специальная программа O3-Navigator (www.ozonprotocols.org), которая рассчитывает интегральное отклонение процентного содержания моноцитов, эозинофилов, базофилов и палочкоядерных нейтрофилов от средних значений соответствующих норм. Как показывает статистический анализ, названное интегральное отклонение монотонно растет в течение жизненного цикла пациента и может использоваться для оценки его адаптационного возраста. Существует также статистическая зависимость между концентрацией лимфоцитов и типом текущей адаптационной реакции пациента. Программа O3-Навигатор использует эти зависимости для расчета адаптационного возраста (AB) и типа адаптационной реакции пациента (Лейкотест). Программа имеет также встроенный модуль распознавания типа адаптационной реакции по специальному опроснику (Психотест) [1]. Пользуясь этой программой, врач может видеть на экране компьютера график динамики изменения адаптационного возраста пациента в ходе курса озонотерапии. Кроме озона, мы изучали действие на адаптационную систему двух других медицинских газов – инертного газа ксенона и восстановителя водорода. Выбор этих газов связан с тем, что спектры их фармакологической активности практически идентичны со спектром озона. Для проверки адекватности метода оценки работы системы гомеостаза по программе O3-Навигатор, нами проведено исследование влияния глубокой транскраниальной магнитной стимуляции мозга (dTMS) на адаптационный возраст. dTMS в основном генерирует микротоки в дорсолатеральном отделе префронтальной коры головного мозга, однако стимуляция захватывает также более глубокие области головного мозга, в том числе промежуточный мозг включая гипоталамус и гипофиз [3]. В результате пилотного исследования в котором приняло участие 49 добровольцев в возрасте от 35 до 62 лет (средний возраст 52 года). Вся группа добровольцев состояла из пациентов проходивших реабилитацию после 12-недельного курса противовирусной терапии (софосбувир+даклатосфир) по поводу хронического гепатита С в клинике предприятия «Эконика» в период 2015-2016 годов. В результате исследования установлено:

- курс озонотерапии (АНТ-О3, 200 мл аутокрови, 200 мл озono-кислородной смеси с концентрацией озона 20 мг/л, интервал между процедурами – два дня, количество процедур в течение курса варьировало от 6 до 12) вызывает закономерную затухающую колебательную динамику отклонения процентного содержания моноцитов, палочкоядерных нейтрофилов, эозинофилов и базофилов от соответствующих средних значений нормы. Курс процедур считается законченным (так называемый “правильный курс”), в случае резкого (16-32 года) уменьшения АВ, которое трактуется как адаптационное омоложение (АО) по Лейкотесту и Психотесту программы ОЗ-Навигатор.

- АО в случае проведения “правильного курса” озонотерапии продолжается в среднем 4.5 месяца, после чего АО по Психотесту и Лейкотесту программы ОЗ-Навигатор возвращается к биологическому возрасту, а пациент ощущает субъективное ухудшение состояния. Пример динамики адаптационного возраста показан на Рис.1.

- курс процедур dTMS вызывает резкое снижение АО по Психотесту и колебательную динамику по Лейкотесту программы ОЗ-Навигатор. Дополнение курса процедур dTMS двумя-тремя процедурами АНТ-О3 оказывает ярко выраженное синергическое действие на АО по программам Лейкотест и Психотест программы ОЗ-Навигатор. (см. Рис.2)

- обработка крови водородом превосходно снижает АВ по программе Лейкотест ОЗ-Навигатора и оказывает незначительное влияние по программе Психотест ОЗ-Навигатора. Поочередное (с интервалом двое суток) применение процедур аутогемотерапии озоном и водородом оказывает синергическое действие, устраняет колебательную динамику АВ и сокращает сроки наступления АО (Рис.3).

- ингаляции ксеноном избирательно влияют на АВ по Психотесту программы ОЗ-Навигатор. Дополнение ингаляций ксенона процедурами озонотерапии снижают также АВ по Лейкотесту программы ОЗ-Навигатор (см. Рис.4).

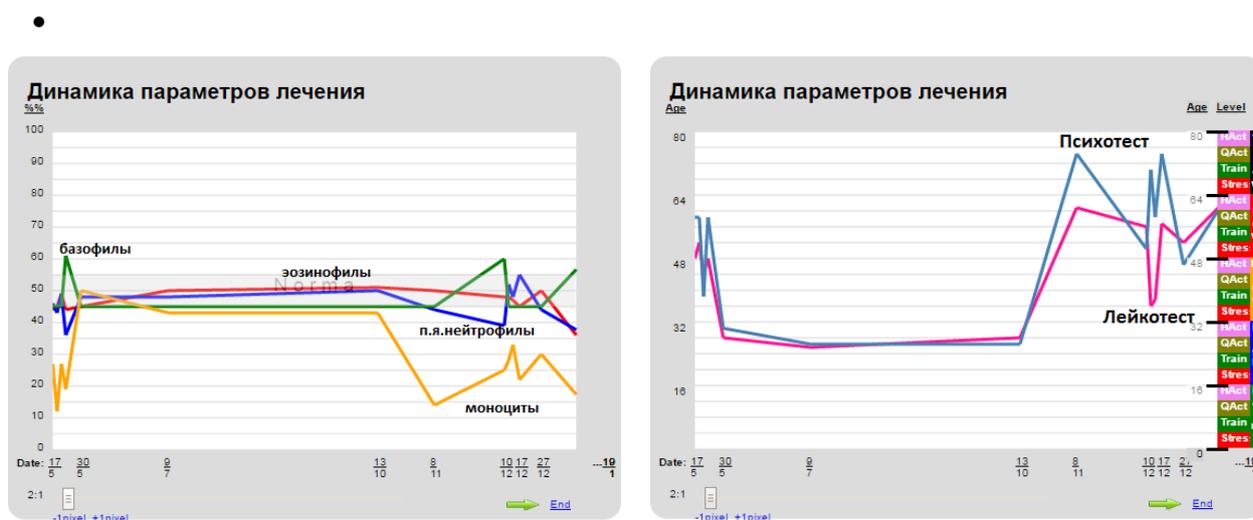


Рис. 1. Динамика отклонений моноцитов, эозинофилов, базофилов и п/я нейтрофилов от средин нормы (слева) и адаптационного возраста по Лейкотесту и Психотесту (справа) пациента ГМ в период проведения курса озонотерапии и в последующие 6 месяцев. Внизу указаны даты проведения процедур большой аутогемотерапии (доза 4 мг). Здесь и далее приведены скриншоты экрана работающей программы ОЗ-Навигатор

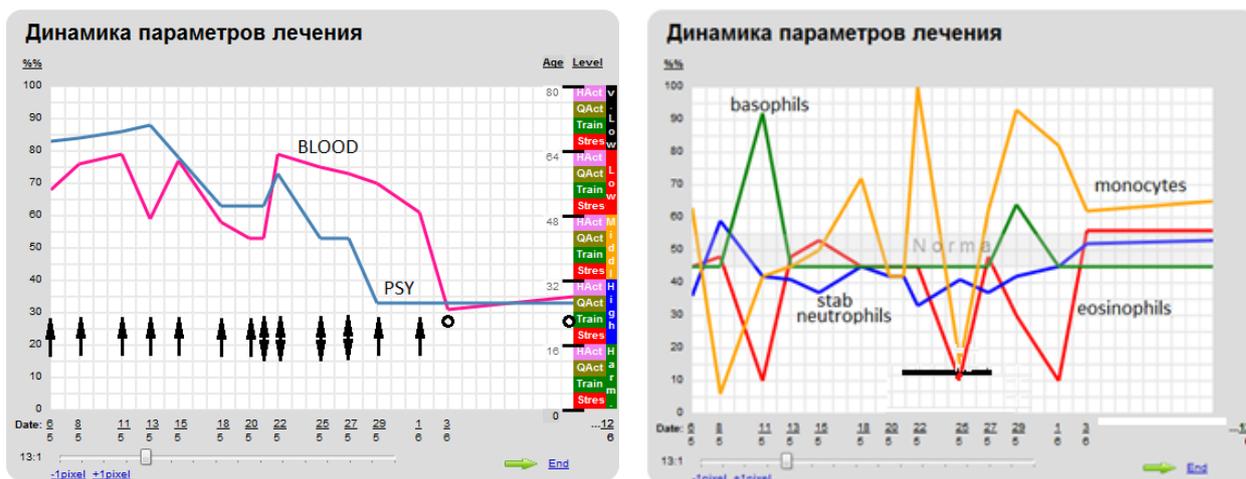


Рис. 2. Слева - изменение адаптационного возраста пациента СТ. в ходе процедур инфузии озонированного физиологического раствора (отмечены одинарными стрелками) и глубокой транскраниальной магнитной стимуляции (dTMS) (отмечены двойными стрелками) по Лейкотесту (BLOOD) и Психотесту (PSY), справа – изменение лейкоформулы этого же пациента в ходе курса лечения. Длительность курса DTMS отмечена жирной линией

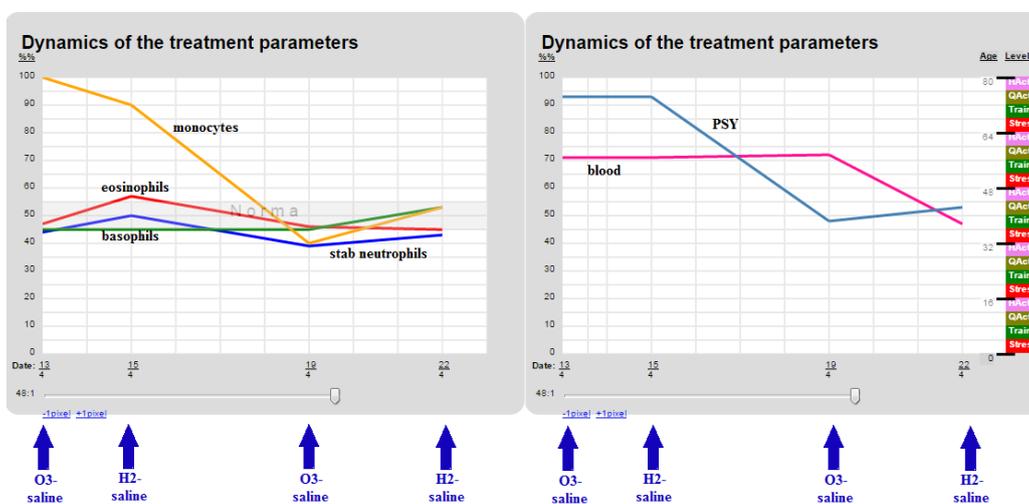


Рис. 3. Динамика напряжённости лейкоформулы (слева) и адаптационного возраста, рассчитанного по Лейкотесту (blood) и Психотесту (PSY). Пациент ОН, биологический возраст 62 года. Участвовал в эксперименте, жалуясь на упадок сил, апатию и общее недомогание, вызванное курсом противовирусной терапии хронического гепатита С (генотип 1b). Обозначение на рисунке: H2-saline – ФР, насыщенный водородом, 200 мл, O3-saline – ОФР (концентрация озона -2 мг/мл)

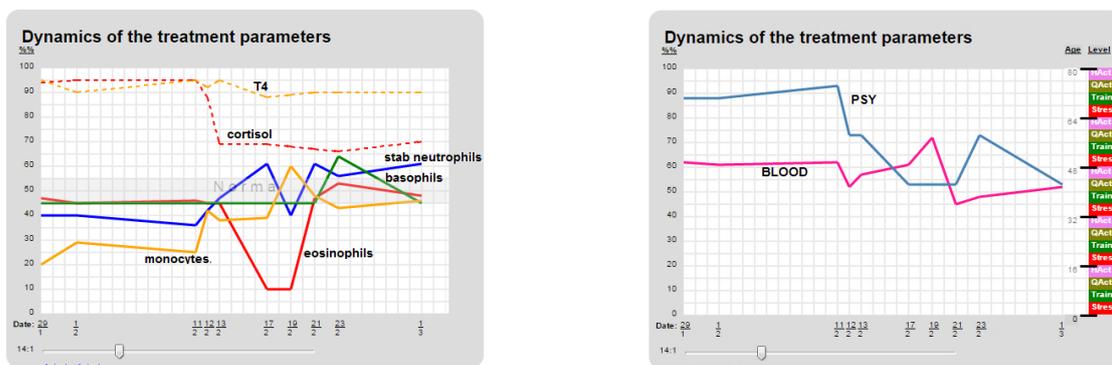


Рис. 4. Пациент Гл. Биологический возраст – 38 лет. Диагноз – хроническая усталость. Слева - динамика изменения отклонений процента моноцитов, палочкоядерных нейтрофилов, базофилов, и эозинофилов от среднего значения соответствующей нормы, а также уровня кортизола и тироксина. Справа – динамика адаптационного возраста, рассчитанного подпрограммой «Лейкотест» (BLOOD) и подпрограммой «Психотест» (PSY) программы ОзНавигатор. В нижней части графиков указаны даты проведения анализов. Протокол курса ксеноновой терапии см. в таблице 1

Таблица 1. Протокол курса и динамика адаптационной реакции пациента Гл. в ходе курса ксеноновых ингаляций

Date	Remarks	Adaptation (blood)	Adaptation (psychotest)
29/01	control	stress+++ low level (unsatisfactorily)	Reaction training - Level very low
01/02	control	stress++ low level (unsatisfactorily)	Reaction training - Level very low
11/02	Xe	stress+++ low level (unsatisfactorily)	Reaction moderate activation - Level very low
12/02	Xe	moderate activation+++ middle level (satisfactorily)	Reaction moderate activation - Level low
13/02	Xe	increased activation+++ middle level (satisfactorily)	Reaction moderate activation - Level low
17/02	Xe	stress++ low level (unsatisfactorily)	Reaction moderate activation - Level middle
19/02	Xe	moderate activation+++ low level (unsatisfactorily)	Reaction moderate activation - Level middle
21/02	Xe	training+ middle level (satisfactorily)	Reaction moderate activation - Level middle
23/02	control	training+++ middle level (satisfactorily)	Reaction moderate activation - Level low
01/03	control	moderate activation+++ middle level (satisfactorily)	Reaction moderate activation - Level middle

Из приведенных выше данных можно сделать следующие **выводы**:

1. Поскольку нефармакологическое воздействие - электромагнитная стимуляция мозга (dTMS) вызывает реакцию белой крови принципиально сходную с реакцией на озон, водород и ксенон, можно сделать логический вывод, что регистрируемые по Лейкотесту программы ОЗ-Навигатор адаптационные сдвиги под действием медицинских газов связаны с влиянием (прямым для водорода и ксенона или опосредованное через продукты озонолиза крови для озона) на высшие центры нейрогуморальной системы;

2. Особенности продуктов взаимодействия озона и водорода с кровью диктуют характер реакции адаптационной системы. В рамках используемого нами метода, мы оцениваем особенности взаимодействия нейрогуморальной системы с исследуемыми газами по их влиянию на психический и соматический компонент психосоматического состояния человека по Психотесту и Лейкотесту программы ОЗ-Навигатор соответственно. При всей условности такого деления, можно сказать, что слабая реакция Психотеста на курс терапии медицинским газом соответствует слабому воздействию на таламическую часть гипоталамо-гипофизарного комплекса и наоборот. Соответственно слабая реакция Лейкотеста означает слабое влияние на гипофиз и контролируемые им периферические железы внутренней секреции и наоборот. Продукт взаимодействия озона с кровью, вероятно, активирует преимущественно центральное звено нейрогуморальной системы – гипоталамо-гипофизарный комплекс, что позволяет адаптационной системе развить полноценный процесс АО в его психическом и соматическом измерении. Обозначим эффективность действия озонотерапии на адаптационную систему как (Лейкотест+++), (Психотест+++).

3. Водород вероятнее всего оказывает регулирующее воздействие на уровне периферических эндокринных желез, нормализуя концентрации глюкокортикоидов, минералокортикоидов, гормонов щитовидной железы и т.д. Как было показано ранее, концентрация эндогенного водорода в мозге в десятки раз ниже уровня этого газа в печени, почках и селезенке. Возможно, это является причиной избирательности действия водорода на различные звенья эндокринной системы. Обозначим эффективность действия водородной терапии как (Лейкотест+++), (Психотест+).

4. Ксенон, наоборот, оказывает выраженное влияние на Психотест, мало влияя на Лейкотест. Известно, что ксенон в терапевтических концентрациях влияет на функции ствола мозга, вызывая умеренный гиперпноэ, брадикардию, эйфорию [2]. Очевидно, что действие ксенона затрагивает также функции гипоталамуса, что и обнаруживается Психотестом в остаточном виде в постингаляционный период. Обозначим эффективность действия ксеноновой терапии как (Лейкотест+, Психотест+++).

5. Совместное применение озона и водорода, а также озона и ксенона имеет синергический эффект, который можно обозначить (Лейкотест++++), (Психотест++++).

6. В целом, как минимум на примере озонотерапии, убедительно доказано, что модули Лейкотест и Психотест программы ОЗ-Навигатор адекватно описывают психосоматический статус пациента в ходе курса терапии и в промежутке между курсами. Учитывая, что алгоритм работы программы построен на идейной базе теории неспецифических адаптационных реакций организма, это

подтверждает правильность адаптационного подхода к объяснению механизма системной озонотерапии. Учитывая это, нами разработана тактика проведения курсов озонотерапии, позволяющая получить гарантированное адаптационное омоложение организма пациента. С методикой можно ознакомиться на сайте www.ozoneprotocols.org в разделе «Инспектор курса. Руководство»

Список литературы:

1. Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Кузьменко Т.С., Шихлярова А.И. Антистрессорные реакции и активационная терапия. М., 1998. Имедис. С. 3.
2. Буров Н.Е., Потапов В.Н. и др. Наркоз ксеноном. Методические рекомендации. Утверждены Ученым Советом РМАПО 27.05.03. Протокол № 5.
3. Levkovitz Y., Harel E. V., Roth Y. et al. Deep transcranial magnetic stimulation over the prefrontal cortex: evaluation of antidepressant and cognitive effects in depressive patients // *Brain Stimulation*. 2009. Vol. 2, N4. P. 188-200.

К.Н. Конторщикова^{1,2}, А.В. Алясова¹, И.Г. Терентьев¹, С.Н. Цыбусов¹, К.А.Шахова¹,
Е.С.Макарова¹, С.П. Перетягин¹

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ ДЕЙСТВИЯ ОЗОНА НА ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫЕ КЛЕТКИ

¹Нижегородская государственная медицинская академия

²Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет
им. Н.И. Лобачевского, г. Нижний Новгород, Россия

В эксперименте изучалось влияние химиопрепарата доксорубина и озона на жизнеспособность нормальных Chang liver (Ch.1.) и злокачественных SK–HEP-1 клеток печени в культуре. Установлено сходное повышение свободнорадикального окисления при действии озона и доксорубина как изолированно, так и в сочетании. Показано, что наибольшей цитотоксичностью обладает доксорубин в отношении как нормальных, так и злокачественных клеток. Озон как изолированно, так и в комбинации с доксорубином также проявлял выраженную цитотоксичность. Под действием озона изменяется содержание фермента каспазы сходно с доксорубином. Под действием озона внутри клеток образуются пероксиды.

Ключевые слова: озон, злокачественные клетки, каспаза, пероксид.

We studied the effect of ozone and Doxorubicin on viability of normal and malignant liver cells in culture. It found similar increase in free-radical oxidation action of ozone and doxorubicin both alone and in combination. It demonstrated that doxorubicin has the highest cytotoxicity against both normal and malignant cells. Ozone both alone and in combination with doxorubicin cytotoxicity also exhibited pronounced. Under the influence of ozone varies. The content of the enzyme caspase similar to doxorubicin. Under the influence of ozone inside the cells will be delighted peroxide.

Key words: ozone, malignant cells, caspase, peroxide.

В наших экспериментальных исследованиях, выполненных на лабораторных животных с перевитой опухолью молочной железы показано, что действие озона на патоморфоз злокачественных клеток сопоставим с действием известного химиопрепарата доксорубина. [1, 3]. Для уточнения механизмов действия озона необходимым явился переход от экспериментов на целостном организме животного к культуре злокачественных клеток.

Цель работы – провести сравнительное изучение влияния доксорубина и озона на жизнеспособность нормальных и злокачественных клеток человека.

Материалы и методы

Эксперименты проводились на культивированных клетках:

1. нормальной печени человека Chang liver (Ch.1.);
2. аденокарциномы печени человека SK-HEP-1.

Испытуемые среды готовили следующим образом: в 50 мл среды для выращивания клеток, вводили:

- а) доксорубицин в дозе 0,004 мг;
- б) 150 мл кислорода; в) 150 мл озono-кислородной смеси с концентрацией озона 25 мг/л;
- г) среда с кислородом + доксорубицин 0,004 мг;
- д) среда с озono-кислородной смесью + доксорубицин 0,004 мг.

Озоно – кислородная газовая смесь поступала со скоростью 1 л/мин в течение 5 минут из генератора озона Квазар (Нижний Новгород). Среду, на которой выращивались клетки, заменяли на среды, соответственно а, б, в, г, д.

Проверку клеток на жизнеспособность проводили по восстановлению солей тетразолия МТТ (Sigma, США) [2, 4]. Концентрацию фермента каспазы -3 определяли методом иммуноферментного анализа Human –Caspase-3 Instant ELISA.

Полученные результаты статистически обработаны с помощью пакета прикладных программ Biostat.

Результаты

Жизнеспособность клеток напрямую связана с активностью ферментов оксидоредуктаз. Снижение активности данных ферментов указывает на выраженную цитотоксичность доксорубицина в отношении нормальных клеток печени (показатель жизнеспособности 3,5%) и особенно злокачественных клеток печени (показатель жизнеспособности 1,56%). Введение в культуральную среду озono-кислородной смеси вызывало образование продуктов взаимодействия озона с биоорганическими соединениями (озониды). Эти продукты, по всей видимости, повреждали клеточные мембраны и подавляли активность оксидоредуктаз, что проявлялось снижением показателей жизнеспособности (4,54% - для нормальных клеток и 16,5% - для злокачественных клеток печени). Количественные различия нормальных и злокачественных клеток можно объяснить более мощной антиоксидантной защитой злокачественных клеток. Сочетанное использование доксорубицина и кислорода показало, что применение двух агентов оказывает более выраженное действие на нормальные клетки, а не на злокачественные, имеющие более выраженную антиоксидантную систему защиты. Сочетание доксорубицина и озона сопровождалось снижением жизнеспособности как нормальных клеток до 7,9%, так и злокачественных до 2,6%. Отличие этих показателей от тех, что получено при действии изолированного введения доксорубицина и окислителей связано, по всей видимости,

с взаимодействием этих факторов между собой и компонентами клеток, в том числе и с антиоксидантами.

Проведенные исследования показали, что доксорубин обладает выраженной цитотоксичностью и в отношении нормальных клеток печени, и особенно злокачественных клеток печени. Применение кислорода в монорежиме не изменяет состав среды для клеточной культуры и не мешает пролиферации клеток. Введение в культуральную среду озон-кислородной смеси проявляется снижением показателей жизнеспособности для злокачественных клеток печени. Сочетанное использование доксорубина и кислорода оказывает более выраженное действие на нормальные клетки, а не на злокачественные, имеющие более выраженную антиоксидантную систему защиты. Сочетание доксорубина и озона сопровождается снижением жизнеспособности и нормальных клеток и злокачественных клеток.

Ферментами, способными вызывать апоптоз клеток, являются каспазы. В нашем исследовании оценивалось содержание каспазы-3. В нормальных клетках печени изменений концентраций каспазы-3 не установлено. Самая высокая концентрация отмечалась при воздействии на злокачественные клетки доксорубином $4,760 \pm 0,06$ pg/ml, в 30 раз выше, чем в контроле. Это подтверждало высокую апоптотическую активность данного цитостатика. Введение озонированной среды увеличивало количество каспазы в 11 раз и составляло $2,672 \pm 0,02$ pg/ml. При смене среды для выращивания клеток на среду, содержащую доксорубин и озон, количество каспазы увеличивалось в 13 раз ($2,043 \pm 0,03$ pg/ml), доксорубин и кислород в 16,6 раз ($2,672 \pm 0,02$ pg/ml).

Во втором эксперименте использовались клетки линии цервикальной карциномы человека HeLa Kyoto, экспрессирующие сенсор пероксида водорода HyPer2 (линия HeLa-Kyoto-HyPer2). Сенсор HyPer2 чувствителен как к изменениям уровня H_2O_2 , так и уровня pH внутри клеток. Для того, чтобы исключить вероятное влияние изменений pH на флуоресцентные свойства HyPer2, все эксперименты дублировались на такой же клеточной линии, экспрессирующей сенсор pH SypHer2, представляющий собой H_2O_2 -нечувствительный аналог HyPer2 (линия HeLa Kyoto-SypHer2). HyPer2 и SypHer2 Эксперимент проводился на установке лазерной сканирующей микроскопии Carl Zeiss LSM 510 на базе инвертированного микроскопа Carl Zeiss Axiovert 200 M Флуоресцентные изображения регистрировались каждые 5 минут в течение 7 часов. Реакция сенсора наблюдалась только при добавлении клеткам предварительно озонированной среды. Это подтверждает рост уровня пероксида под влиянием озона. Отсюда, эффект озона на апоптоз злокачественных клеток может проявиться как через действие пероксида, так и через активацию под действием пероксида синтеза каспазы.

Список литературы

1. Алясова А.В., Конторщикова К.Н., Терентьев И.Г. с соавт. Влияние низких терапевтических концентраций озонированного физиологического раствора на патоморфоз опухоли в эксперименте // Современные технологии в медицине. 2010. №4. С. 27-31.
2. Аникина Л.В., Пухов С.А., Добровская Е.С. с соавт. Сравнительное определение жизнеспособности клеток с помощью ММТ и ресазурин // Фундаментальные исследования. 2014. №12-7. С. 1423-1427.
3. Бойко Н.Н., Сенькив Ю.В., Шляхтина Е.А. Действие доксорубицина, доставленного в опухолевые клетки *in vitro* и *in vivo* новым наноразмерным функционализированным олигоэлектролитным носителем // Biotechnologia Acta. Т.6 ,N22, С. 53-62.
4. Mosmann T Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays // J. Immunol. Methods. 1983. Vol. 65. P. 55-63.

Arzu IRBAN

EFFECTS OF OZONE ON SPINAL CORD RECOVERY FOLLOWING SPINAL CORD INJURY

Anesthesiology Department, International Medical School of Medipol University, Turkey

Aim: At the cellular level, spinal cord injury (SCI) provokes an inflammatory response that generates substantial secondary damage within the spinal cord but may also contribute to its repair. Besides intracellular antioxidant increase after exactly estimated oxidative stress; oxygen formation and transport is also advanced by ozone. The Wnt family of proteins contributes to the development of the nervous system, influencing cell proliferation. In the present study we evaluated the effect of ozone on spinal cord injury in rats.

Material and Methods: Twenty-one male Sprague–Dawley rats were used. The rats were randomly allocated into three groups (control, trauma and trauma+ozone). SCI was inflicted using Allen’s spinal cord trauma method. The study was performed to determine the effects of ozone therapy on rats with SCI in terms of locomotor strength clinically and neuronal injury, white matter cavitation, edema, number of blood vessels, and expression of β -catenin immunohistochemically.

Results: Comparison of the locomotor strength scores revealed a significant improvement on day 7 in trauma+ozone group. The groups were compared with regard to edema, neuronal injury and white matter cavitation. Average β -catenin levels were significantly different between the control group (68.11 ± 0.43), trauma+ozone group (37.96 ± 2.16), and trauma group (25.46 ± 1.07) ($F = 1677.74$, $df = 2$, $p < 0.0005$).

Conclusion: The results of this study indicated that ozone therapy accelerates the healing process, increases vascularity, and reduces neuronal damage in rodents, suggesting that ozone therapy may be an adjuvant treatment in patients with SCI.

Keywords: Beta-catenin, Ozone therapy, Rat, Spinal cord injury, Wnt pathway

Spinal cord injury (SCI) can occur as a result of severe neural trauma that sometimes causes a chronic functional deformity. The patient population is usually young (16-30 years), but their survival is expected to be long, requiring a prevention system to avoid undesirable life quality decrease and high healthcare costs due to secondary injury following primary SCI. At the moment of trauma, inevitable primary injury occurs whereas secondary injury develops over time involving greater tissue damage. The factors influencing secondary damage are local inflammation, excitatory toxicity, and significant oxidative stress. This damage occurs after the primary injury within days and weeks. The reaction of inflammation in the acute injury can be considered as a host defense mechanism that acts

as a barrier to remove pathogens and tissue debris. Inflammatory cells travel towards the wound site to trigger wound healing to end with recovery. However, this can result in an excess of undesirable toxic molecules produced by inflammatory cells during the acute and chronic phases of spinal cord injury causing unexpected tissue damage.

In the early stages of neural development, the Wnt family of proteins play an important role in influencing cell proliferation and patterning, cell polarity and motility, axonal guidance, neuronal survival and connectivity, and cell–cell adhesion. Three Wnt signaling pathways have been characterized: the canonical Wnt pathway, the non-canonical planar cell polarity pathway, and the non-canonical Wnt/calcium pathway. The canonical Wnt pathway leads to regulation of gene transcription, the non-canonical planar cell polarity pathway regulates the cytoskeleton that is responsible for the shape of the cell, and the non-canonical Wnt/calcium pathway regulates calcium levels within the cell. These categories differ in that the canonical pathway involves the protein β -catenin, while the non-canonical pathway operates independently. Numerous supportive literature points to the role of Wnt signaling pathways in the adult central nervous system (CNS) homeostasis and diseases (eg.SCI). β -catenin is a dual-function protein, which regulates the coordination of cell–cell adhesion and gene transcription; it is a subunit of the cadherin protein complex and acts as an intracellular signal transducer in the Wnt signaling pathway.

Ozone is a chemical compound consisting of three oxygen atoms. Medical ozone is obtained via an ozone generator in which oxygen (O_2) molecules obtained from a 100% oxygen source are divided into two oxygen atoms after passing through an electric field and temporarily recombined in groups of three oxygen atoms. Then, ozone is obtained as a gas. Systemic application of ozone leads to delivery of super-enriched oxygen at a cellular level and optimizes cell function. Many biological effects have been attributed to ozone, such as increased glycolysis, effects on red blood cells, effects on rheology, bactericidal, fungicidal, and virustatic, immunomodulatory actions, and analgesic and antiinflammatory effects. Application of low-dose ozone inhibits prostaglandin synthesis, release of bradykinin and algogenic substances, and proteinase secretion from macrophages and polymorphonuclear leukocytes. The present study was performed to determine the effects of ozone therapy on rats with SCI in terms of locomotor strength clinically and neuronal injury, white matter cavitation, edema, number of blood vessels, and expression of β -catenin immunohistochemically.

Experimental Design

The experimental study was carried out according to Animal Care and Use Committee at Marmara University School of Medicine, Istanbul, Turkey approval protocol. Twenty-one male Sprague–Dawley rats were used, each weighing 250–300 g and housed in a separate cage at the Experimental Animal Implementation and Research Center (DEHAMER) of Marmara University. The animals were provided a standard rodent chow diet and water *ad libitum* and kept at a constant

temperature (22°C) under a 12:12 h light:dark cycle. In all of the surgical groups, the animals were anesthetized by intraperitoneal injection of ketamine hydrochloride (90 mg/kg, Ketalar; Pfizer, Istanbul, Turkey) and xylazine hydrochloride (10 mg/kg, Rompun 2%; Bayer United German Pharmaceutical Factories, Istanbul, Turkey) and then placed on an operating board in the prone position. During surgical preparation, the dorsal hair of each rat was closely shaved using an electric razor, and the surgical field was cleaned and disinfected with 10% povidone-iodine solution and draped with sterile towels. A posterior midline incision was made between the 5th and 10th thoracic vertebrae. Following paravertebral muscle dissection, laminectomy of the 9th thoracic vertebra was carried out. The rats were randomly separated into three groups (seven rats per group) using sealed envelopes selected by a physician. In Group C (control group; $n = 7$): only T9 laminectomy was performed. Group T (trauma group; $n = 7$): SCI was inflicted using Allen's spinal cord trauma method (2). Group O (trauma + ozone group; $n = 7$): SCI was inflicted using Allen's spinal cord trauma method, and ozone was applied. In all groups, the wound sites were closed using nonabsorbable sutures. After surgery, medical air in Groups C, and trauma or 0.7 mg/kg ozone in Group O was insufflated rectally once a day for 5 consecutive days (Medozon Compact; Herrmann Apparatebau GmbH, Kleinwallstadt, Germany).

Routine bladder emptying was forced manually until spontaneous voiding was reached out. Ketorolac was given to all rats at a dose of 50 mg/kg intraperitoneally for postoperative analgesia for 5 days.

Allen's Spinal Cord Trauma Method

The instrument that had a 10-cm guide tube and inner rod (stainless steel, 5 g) was placed perpendicular to the spinal cord. The trauma produced a dorsal surface spinal cord injury by an impact effect of 50 g/cm² (2).

Locomotor Strength

The locomotor strength of the animals was rated using the Basso, Beattie, Bresnahan (BBB) scale (21 points: ranging from no movement to full range) and recorded by a neurosurgeon blinded to the groups on days 0, 3, 7, 14, 21, 28, and 35 following SCI (3).

Tissue Sampling

On day 35, all rats were perfused with intracardiac fixative solution (10% neutral buffered formalin), and only the injury site spinal cord tissue samples were then dissected and fixed in 10% formalin solution for 24 hours before tissue processing.

After embedding in paraffin, spinal cord tissue sections 4 µm thick were stained with hematoxylin-eosin (H&E) to assess spinal cord morphology and the number of blood vessels. The spinal cord was evaluated for neuronal injury (3 points: mild to severe), white matter cavitation/cyst formation (3 points: absent, few, > 5 in a single field), blood vessel ingrowth (5 points: absent, few, >

3), edema (+/-), demyelination (3points: mild to severe), Inflammation (+/-), and hemorrhage (+/-) by a histologist blinded to the groups.

Histomorphometric Analysis

Five serial sections from each sample and a minimum of five adjacent fields from each section were quantified using a $\times 40$ magnification. The number of blood vessels was evaluated histomorphometrically using a semiautomatic image analysis system (University of Texas Health Science Center at San Antonio (UTHSCSA) image tool for Windows version 1.28).

Immunohistochemical Analysis

Spinal cord sections 5 μm thick were cut from paraffin blocks. The tissue blocks were selected carefully after histological assessment of sections stained with H&E (hematoxylin acc. to Gill III, cat. no. 1.05174; eosin solution 0.5% alcoholic, cat. no. 1.02439; Merck, Darmstadt, Germany). Following deparaffinization and incubation of sections with primary anti- β -catenin antibody (1:100, C2206; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), immunohistochemistry was performed using the streptavidin–biotin method in a fully automated system (Benchmark Ultra; Ventana, Tucson, AZ, USA). In the negative controls, the primary antibodies were omitted. All sections were mounted with mounting medium (Shandon EZ-Mount; Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), and immunoreactive cells were evaluated using a Zeiss Axiovert A1 microscope and imaged using the AxioCam ICc5 (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA). The presence of a Brown precipitate indicated a positive reaction with the primary antibodies. To determine the immunoreactivity of the sections, a series of semi-quantitative analyses were performed. The H-score was calculated using the following equation: $H\text{-score} = \sum P_i (i + 1)$, where i is the labeling intensity of value 1, 2, or 3, (weak, moderate, or strong, respectively) and P_i is the percentage of labeled cells for each intensity, varying from 0 to 100%.

Statistical Analysis

The Mann–Whitney U test was used to compare inconsistencies with the normal distribution of the data. Averages of the groups were compared using one-way ANOVA. Scheffé's test was used for post hoc analysis. In all analyses, $p < 0.05$ was taken to indicate statistical significance. Bonferroni's correction was used when necessary. SPSS 16 software was used for all analyses (SPSS, Chicago, IL, USA). All data were evaluated in a blinded fashion and expressed as means \pm SD.

Results

Comparison of the BBB scores revealed a significant improvement on day 7 in Group O ($U = 5.5$, $z = -2.52$, $p = 0.012$). However, after the 35-day follow-up period, comparison of the BBB scores showed no significant differences among the groups ($U = 24.5$, $z = 0.00$, $p = 1.00$).

The groups were compared with regard to edema, neuronal injury, and white matter cavitation. Neuronal injury and White matter cavitation were grade 2 in Group T and grade 1 in Group O. Edema was not detected in any of the groups (Figure 1A-C, Table I).

The average numbers of blood vessels were significantly different among Group O (20.89 ± 3.03), Group T (17.32 ± 1.68), and Group C (8.57 ± 0.43) ($F = 69.097$, $df = 2$, $p < 0.0005$).

Post hoc comparisons indicated significant differences among all three groups (Group O > Group T > Group C) (Scheffé’s test, $p < 0.014$) (Figure 2). Average β -catenin levels were significantly different among Group C (68.11 ± 0.43), Group O (37.96 ± 2.16), and Group T (25.46 ± 1.07) ($F = 1677.74$, $df = 2$, $p < 0.0005$). Post hoc comparisons indicated significant differences among all three groups (Group C > Group O > Group T) (Scheffé’s test, $p < 0.0005$) (Figures 3A-C, 4).

Table I: Histological Evaluation of the Groups

	Group C	Group T	Group O
Neuronal injury	0	2(+)	1(+)
White matter cavitation	0	2(+)	1(+)
Edema	0	0	0

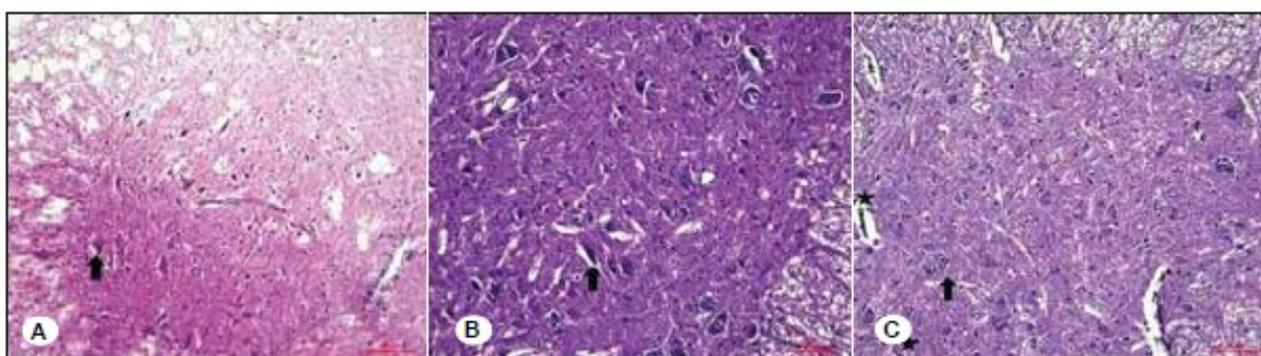


Figure 1: Hematoxylin and eosin staining; A) Group C; B) Group T; C) Group O. (Black arrows indicate neurons, stars indicate blood vessels).

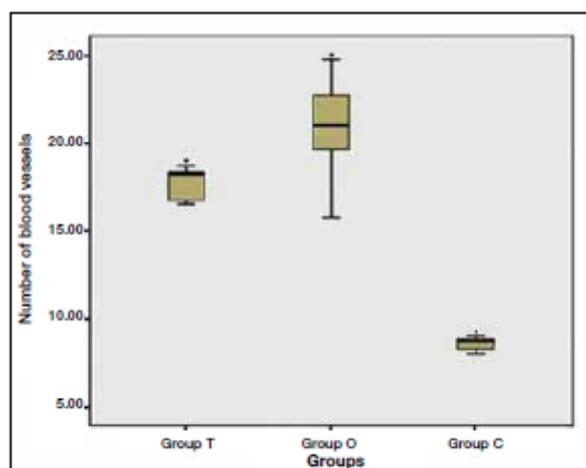


Figure 2: Numbers of blood vessels in the different groups (* $p < 0.0005$).

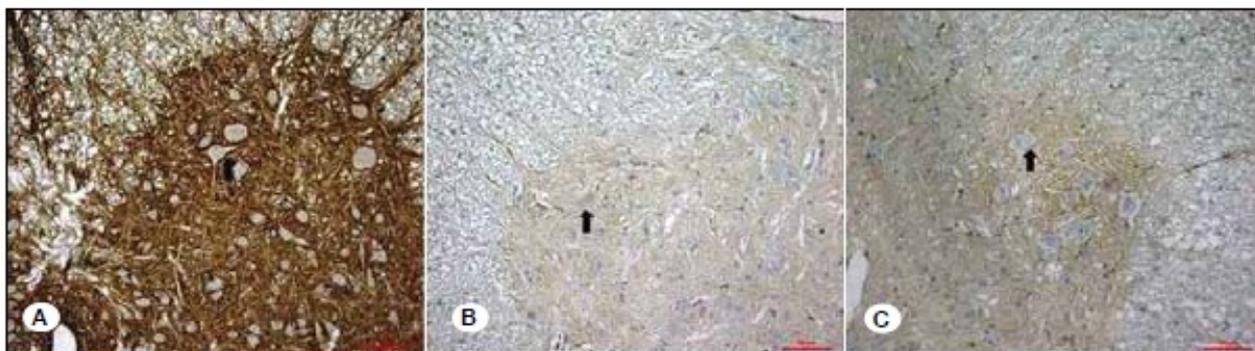


Figure 3: Immunohistochemical staining for β -catenin. A) Group C; B) Group T; C) Group O. (Black arrows indicate positive staining for β -catenin in neurons).

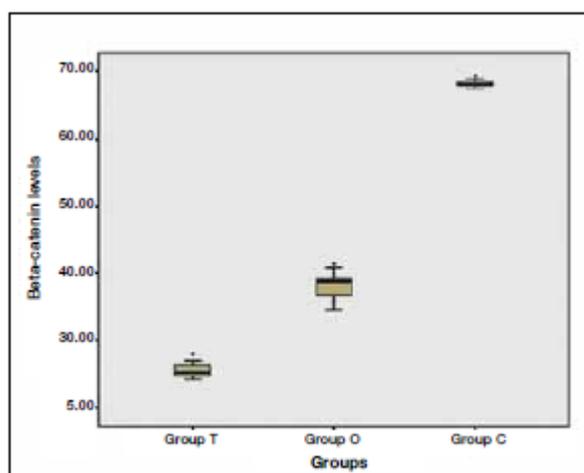


Figure 4: Distribution of β -catenin levels (H-score) among groups (* $p < 0.0005$).

Discussion

Injury caused by SCI has many distinct factorial aspects including primary mechanical damage, secondary cell apoptosis, reactive gliosis, and axons inability to regenerate. The core of the SCI has the necrotic neural death characteristics, whereas secondary tissue damage is also significant in the penumbra zone. In penumbra zone processes like ischemia, inflammation, hypoxia, excitotoxicity, protease release, and free radical formation occur. One of the most serious effects is functional deterioration following SCI. Chen et al. (5) reported that the first 28 days are a critical period for neural regeneration and functional recovery in rats following SCI. Our results indicated a better BBB score in group O than group T on day 7, but with no difference on day 35, suggesting that ozone rapidly improves the BBB scores during the early stages of treatment. We found that ozone accelerates the healing process. Another serious effect of SCI is neural degeneration along with the death of neurons and oligodendrocytes, resulting in necrotic neural tissue due to inflammation and apoptosis. Our histopathological evaluation showed that the extent of neuronal injury and white matter cavitation in group O was less than that in group T on day 35. Edema was not detected in any of the groups in the present study. The lack of edema may have been due to the long post-trauma

follow-up period in our study. Disruption of blood circulation and increased free radical levels are major problems in the healing process following SCI. Previous studies concluded that angiogenic activity leads to improved functional outcomes in SCI animal models. Chen et al. reported that hypoxia-inducible factor 1 improves the influx of oxygen towards injured site of the spinal cord, promoting angiogenesis thus improving the microenvironment for reformation of spinal cord functioning following SCI. Loy et al. reported that vessel density increases after SCI in rats, and results of autoradiographic studies indicated that the spinal cord vasculature remains until day 28 following SCI. Angiogenic and anti-angiogenic therapies have been shown to have functional efficacy in animal models. Assessment of spinal cord vascularization indicated that Group O had a significantly greater number of vessels than did Group T. These observations indicated that ozone accelerates the healing process, increases the vascularity, and reduces the neuronal damage associated with SCI. Wnt/ β -catenin signaling influences the proliferation or differentiation of stem cell and progenitor populations. Recent studies have shown that the expression of Wnt ligands, their inhibitors, and components of their intracellular signaling pathways are prolonged in the adult spinal cord, as is activation of the canonical pathway, suggesting that the Wnt family of proteins plays a role in spinal cord function and physiology. Active β -catenin is expressed strongly in the gray matter of the non-injured spinal cord. Experimental studies suggested an important role of the Wnt/ β -catenin pathway following CNS and spinal cord trauma. Fernández-Martos et al. demonstrated that trauma induces a dramatic and time-dependent change in the physiological pattern of Wnt mRNA expression in a rat SCI model. We showed that the β -catenin level was significantly higher in group O on day 35 after trauma. In contrast, White et al. reported that the number of cells with β -catenin signaling increased in the cortex and subcallosal zone following traumatic brain injury but not following SCI. Frosini et al. demonstrated the neuroprotective effects of ozone in an *in vitro* model of brain ischemia. Oxygen induces plasma hyperoxygenation and saturates hemoglobin with oxygen, whereas ozone is figured as a pro-drug. Ozone is a rapidly dissolving molecule – more than oxygen- intensely in aqueous compartment of the plasma, reacts with solutes such as hydrosoluble anti-oxidants and polyunsaturated fatty acids bound to albumin. Erythroid 2-related factor is a released nuclear factor. Entering the nucleus and binding to the antioxidant response element, erythroid 2-related factor triggers the transcription of various antioxidants and phase II detoxifying enzymes. They concluded that after exactly calculated oxidative stress, ozone corrects oxygen-glucose release and delivery and coordinates intracellular antioxidant enzymes' upregulation.

Conclusion

The present study indicated a rapid recovery in the BBB score during the early period and neural recovery and increased blood vessel number and β -catenin levels in neural tissue during the late period of ozone treatment, suggesting that ozone treatment increases blood vessel density and

stem cell proliferation and differentiation after SCI in rodents. Based on these observations, ozone therapy may be a useful adjuvant treatment in patients with spinal cord trauma.

Reference

1. Tural Emon S, Uslu S, Aydinlar EI, Irban A, Ince U, Orakdogan M, Gulec-Suyen G. Effects of ozone on spinal cord recovery via Wnt/ β -catenin pathway following spinal cord injury in rats // Turkish Neurosurgery DOI: 10.5137/1019-5149.

В.Д. Зинченко¹, К.Н. Головина¹, А.Н. Кириенко², И.И. Топчий²

ОЗОН-ИНДУЦИРОВАННАЯ ГЕНЕРАЦИЯ СИНГЛЕТНОГО КИСЛОРОДА В ПЛАЗМЕ КРОВИ

¹*Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины,*

²*Институт терапии им. Л.Т. Малой АМН Украины, Харьков, Украина*

Изучалась реакция плазмы крови на действие озона методом хемилюминесценции с использованием уранина для регистрации активных форм кислорода. При введении озонированного физиологического раствора (ОФР) в систему уранин-плазма крови возникает короткая вспышка хемилюминесценции длительностью около 5 с и послесвечение, спадающее в течение 20 - 30 мин. Введение в систему перекиси водорода после запуска хемилюминесцентного ответа на озон не влияет на интенсивность послесвечения. Введение ионов двухвалентного железа приводит к снижению интенсивности послесвечения, однако при повторном введении ОФР послесвечение возобновляется. На основании полученных результатов делается вывод, что под действием озона в плазме крови запускается генерация синглетного кислорода.

Ключевые слова: хемилюминесценция, озон, флуоресцеин, уранин, плазма крови, синглетный кислород

There was studied the blood plasma reaction on ozone effect using chemiluminescence with uranine to recorder reactive oxygen species.

A short flash of chemiluminescence with a duration of about 5 s and the afterglow, decaying within 20-30 min, occur when administering the ozonized physiological saline (OPS) into the uranine-blood plasma system. The hydrogen peroxide introduction into the system after triggering a chemiluminescent response to ozone does not affect the afterglow intensity. The administration of ferrous ions reduces the afterglow intensity, but it is recovered during repeated OPS introduction. Basing on these findings we may conclude that under ozone effect the singlet oxygen generation is triggered in blood plasma.

Keywords: chemiluminescence, ozone, fluorescein, uranine, blood plasma, singlet oxygen

Известно, что озон в водных системах в присутствии органических молекул образует ряд других АФК. Целью настоящей работы явилась регистрация новых форм АФК, образующихся в плазме крови под действием озона.

Материалы и методы

Использовали донорскую кровь человека, которую предоставляла Харьковская станция переливания крови со сроком хранения не более 4 суток, в качестве антикоагулянта был использован 3,8% цитрат натрия. Плазму получали, собирая надосадок после центрифугирования крови при 3000g в течение 15 мин. Озон получали путем электролиза, пропуская газообразный кислород через разработанный нами озонатор [Зинченко В.Д. и др. 2005]. Концентрацию растворенного в физиологическом растворе озона определяли спектрофотометрическим методом. Регистрацию хемилюминесценции производили при помощи разработанного нами хемилюминометра [Зинченко В.Д. и др. Пат. 2012]. Использовали уранин (УР) и аскорбиновую кислоту квалификации х.ч. (Sigma-Aldrich, США), перекись водорода квалификации х.ч. (Гамма Хим, Россия), сульфат железа (Sigma-Aldrich, США). Для запуска хемилюминесценции в кювету хемилюминометра, содержащую 500 мкл не забуференного раствора УР и 100 – 200 мкл плазмы крови вводили при помощи дозатора от 0, 2 до 1 мл озонированного физиологического раствора (ОФР) с концентрацией озона $(1,2 - 1,6) \times 10^{-4}$ М (6 – 8 мг/л).

Результаты и их обсуждение

На рис. 1 представлена осциллографическая запись хемилюминесценции (ХЛ) системы УР-плазма крови при введении озона.

Хемилюминесцентный ответ системы УР-плазма крови на действие озона состоит из короткой (около 5 с) вспышки и послесвечения, время спада которого составляет от 20 до 30 мин. Короткую вспышку мы объясняем прямым окислением УР озоном [4 Nikokavouras J. Et al. 1975]. Природа длительного послесвечения требует отдельного исследования.

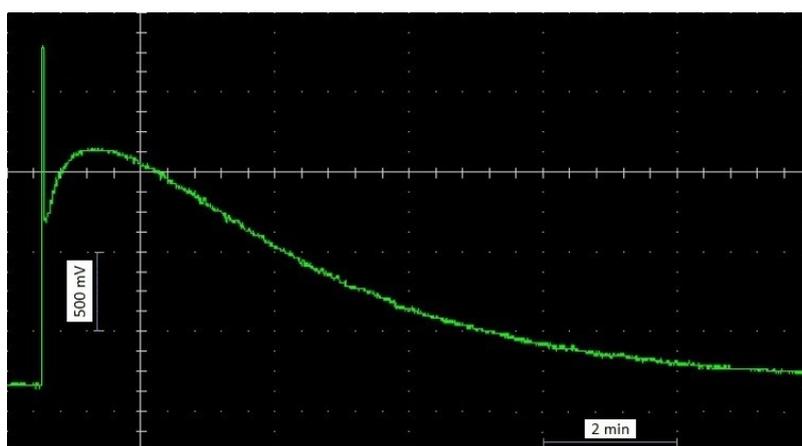


Рис. 1. Осциллографическая запись ХЛ системы УР-плазма крови под действием озона. В кювету хемилюминометра, содержащую 500 мкл раствора УР (100 мкМ) и 100 мкл плазмы крови человека, ввели 1мл ОФР с концентрацией озона $1,5 \cdot 10^{-4}$ М. В качестве меры интенсивности ХЛ используется напряжение на выходе хемилюминометра

На рис. 2 представлены результаты эксперимента, в котором после запуска ХЛ системы УР-плазма крови озонированной регистрировали изменение интенсивности послесвечения, вводя в кювету хемиллюминометра перекись водорода и сульфат железа.

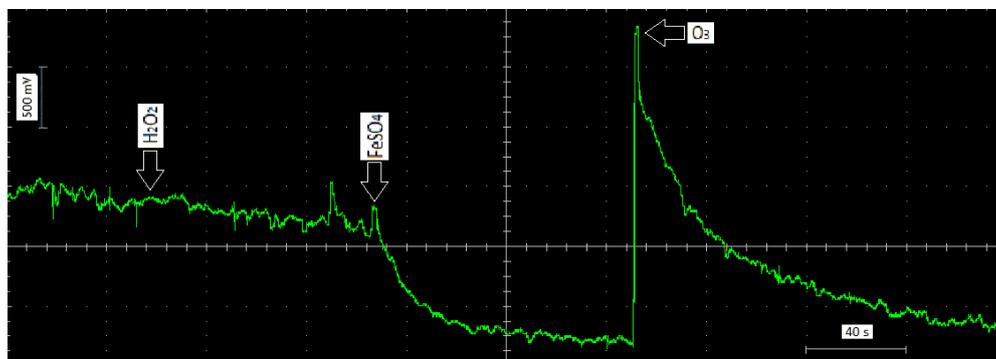


Рис. 2. Влияние перекиси водорода, сульфата железа и повторного введения озона на интенсивность послесвечения системы УР-плазма крови, вызванного озонированием. Условия эксперимента: в кювете хемиллюминометра, содержащей 500 мкл УР (100 мкМ), вызвали послесвечение введением ОФР с концентрацией озона $1,5 \cdot 10^{-4}$ М (момент начала послесвечения не показан); в ходе послесвечения в систему вводили перекись водорода (1 мл раствора H_2O_2 , 1 мМ), сульфат железа (500 мкл, 10 мкМ) и повторно 200 мкл ОФР ($1,5 \cdot 10^{-4}$ М). Моменты введения веществ указаны стрелками

Можно видеть, что перекись водорода не влияет на интенсивность послесвечения, откуда можно полагать, что перекись водорода не участвует в механизме развития послесвечения в исследуемой системе. Взаимодействие ионов двухвалентного железа Fe^{++} с перекисью водорода приводит к окислению двухвалентного железа Fe^{++} до трехвалентного Fe^{+++} и к образованию гидроксид-радикала (реакция Фентона). Если предположить, что исследуемое нами послесвечение связано с окислением УР, то в момент введения сульфата железа следовало бы ожидать возрастания интенсивности ХЛ, поскольку гидроксид-радикал является сильным окислителем. Однако, как видно на рис.2, этого не наблюдается, что дает основание исключить участие гидроксид-радикалов в механизме развития послесвечения. Повторное введение ОФР вызывает новую вспышку послесвечения. По нашему мнению, это является результатом того, что ионы трехвалентного железа не взаимодействуют с АФК и их присутствие в системе не препятствует запуску послесвечения под действием озона. Известен ряд хемиллюминесцентных систем, в которых свет излучается флуоресцеином и его производными, что связано с переносом энергии от других химически активных частиц [Diaz A.N. et al., 1997]. Мы полагаем, что наиболее вероятным претендентом на роль такой химически активной частицы может быть синглетный кислород, который образуется при

реакциях озона с органическими молекулами. Однако следует предположить существование и других механизмов запуска длительной продукции синглетного кислорода озоном в плазме крови, требующих дополнительного изучения.

Выводы

Хемилюминесцентная реакция системы уранин-плазма крови состоит из короткой вспышки длительностью около 5 с и послесвечения, спадающего в течение 20 – 30 мин. На основании полученных результатов делается вывод, что под действием озона в плазме крови запускается генерация синглетного кислорода, механизм которой требует дополнительных исследований.

Список литературы:

1. Зинченко В.Д., Голота В.И., Сухомлин Е.А., Таран Г.В., Белых И.А. Лабораторное оборудование для применения озоновых технологий в биологии и медицине // Проблемы криобиологии. 2005. Т. 15, №4. С. 712–718.
2. Пат. 72111. Україна, МПК G01N 21/76. Біолюмінометр / В.Д. Зінченко, І.П. Горяча, І.В. Говор. Заявл. 05.01.2012; Опубл. 15.08.2012.
3. Nikokavouras J., Vassilopoulos G., Perry A. Some aspects of ozone-induced chemiluminescence of xanthene dyes. III. Stoichiometry and the chemiluminescence spectrum // Chim. Chren., New Ser. 1975. Vol. 4. P. 23-26.
4. Diaz A.N., Garcial J.A.G., Lovillo J. Enhancer Effect of Fluorescein on the Luminol–H₂O₂–Horseradish Peroxidase Chemiluminescence: Energy Transfer Process // J. Biolum. Chemilum. 1997. Vol. 12. P. 309-314.

В.Ю. Титов^{1,2}, А.М. Долгорукова¹, А.Н. Осипов²

ПРЕДПОЛАГАЕМЫЙ МЕХАНИЗМ СПЕЦИФИЧНОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ОКСИДА АЗОТА С ФИЗИОЛОГИЧЕСКИМИ МИШЕНЯМИ

¹ФНЦ Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт
птицеводства РАН, Россия

²ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет
имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия

Показано, что интенсивность трансформации NO до нитрата в биообъектах обусловлена состоянием физиологической мишени оксида азота. Основной физиологический донор NO - динитрозильный комплекс железа, содержащий тиолатные лиганды (ДНКЖ/SH), способен передавать NO на другую молекулу только в момент перестройки комплекса. Последняя может иметь место при взаимодействии комплекса с более эффективными хелаторами железа, чем исходно входящие в его состав. В случае отсутствия молекулы - ловушки NO образуется новый комплекс с новым лигандом. Возможно, лиганды в ДНКЖ и есть структуры, обеспечивающие взаимодействие комплекса с физиологической мишенью и специфичность этого взаимодействия, а также его эффективность.

Ключевые слова: оксид азота (NO), динитрозильный комплекс железа, хелаторы железа, нитрит

It is shown that intensity of nitrogen oxide (NO) transformation to nitrate in biological object is determined by current state of NO physiological target. The basic physiologic NO donor dinitrosyl iron complex containing thiolate ligands (DNIC/SH) is able to transfer NO to another molecule only during the restructuring of the complex. This restructuring can be result of DNIC/SH interaction with the more effective iron chelators than originally has been contained by the complex. At the absence of NO scavengers a new complex with the new ligand will be formed. The ligands in DNIC can presumably be the structures responsible for possibility, specificity, and efficiency of interaction between DNIC and its physiological targets.

Key words: Nitrogen oxide (NO), dinitrosyl iron complex, iron chelators, nitrite

Оксид азота, продуцируемый в живых тканях из аргинина и являющийся универсальным клеточным медиатором, является короткоживущим соединением, быстро окисляющимся до нитрита и нитрата. Считается, что такие соединения как S-нитрозотиолы (RSNO), динитрозильные комплексы железа с тиолатными лигандами (ДНКЖ/SH)

выполняют роль физиологических депо NO, продлевая его время жизни и опосредуя взаимодействие с мишенью [1, 2]. Логично возникают два вопроса: как обеспечивается специфичность взаимодействия NO с мишенью и как избежать окисления NO кислородом до токсического нитрита на стадии взаимодействия с мишенью.

Ответы на эти вопросы и есть цель наших исследований. До сих пор решению этой проблемы препятствовала низкая специфичность используемых методик, не позволяющих оперативно контролировать весь пул нитро- и нитрозосоединений и их взаимные превращения. Так, классический реактив Грисса дает окрашенный продукт не только с нитритом, но и с ДНКЖ и нитрозотиолами. Такая неспецифичность характерна для всех методов, основанных на взаимодействии с реагентом в кислой среде [3].

Разработанный и запатентованный нами ферментный сенсор позволяет оперативно контролировать содержание основных групп нитро- и нитрозосоединений в живых тканях и его изменение в ходе физиологических и патологических процессов [3]. Определение основано на свойстве нитрита (NO_2^-), нитрозоаминов (RNNO), S-нитрозотиолов (RSNO), динитрозильных комплексов железа ингибировать фермент каталазу в присутствии галоид-ионов, и на утрате ими этого свойства под действием определенных факторов, различных для каждой группы соединений. Содержание нитрата (NO_3^-) определялось посредством его восстановления до нитрита хлоридом ванадия и последующем определении как нитрита. Данный метод позволяет количественно определить весь спектр продуктов окисления NO без предварительной подготовки и очистки образца. Чувствительность – до 40 нМ [3]. Метод позволяет оценить интенсивность синтеза NO по суммарному содержанию доноров NO и нитрата, и интенсивность трансформации NO до нитрата по соотношению нитрата и доноров NO [3].

Наши данные, полученные на птичьих эмбрионах - относительно изолированной системе, показывают, что в эмбрионах пород яичного и мясного направления продуктивности имеет место примерно одинаковая интенсивность синтеза NO, но многократно различается интенсивность трансформации доноров NO до нитрата. [4]. То есть интенсивность этой трансформации определяет не концентрация доноров, а, по-видимому, состояние мишени.

Ряд исследователей предполагает, что основными донорами NO, непосредственно взаимодействующим с мишенью, являются ДНКЖ/SH, составляющие основу пула доноров NO в клетке. Нитрозотиолы превращаются в ДНКЖ/SH, взаимодействуя с железом [1]. Хелаторы железа многократно повышали эффективность действия ДНКЖ/SH на модельной системе [5]. Возможно, разрушение комплекса способствует взаимодействию NO с мишенью. Но, как нами установлено, при взаимодействии ДНКЖ/GSH с ЭДТА в

присутствии гемоглобина (ловушки NO) комплекс теряет свойство ингибировать каталазу. При таком же взаимодействии в отсутствие гемоглобина образуется соединение, сохраняющее способность ингибировать каталазу, но теряющее его в системе гемоглобин-дисферал. Следовательно, продукт взаимодействия ДНКЖ/GSH с ЭДТА – не нитрит, поскольку нитрит не теряет ингибирующий эффект в такой системе. Эффект хелатора железа говорит о наличии в составе соединения железа, а эффект ловушки NO – о наличии нитрозо-группы. Мы имеем, таким образом, железо-нитрозильный комплекс, имеющий в своем составе новый, более мощный лиганд, по-видимому, ЭДТА. В свою очередь, продукт взаимодействия ДНКЖ/GSH с цитратом теряет ингибирующий эффект в системе гемоглобин – о-фенантролин, но не теряет в системе гемоглобин – цистеин, если последний взят в концентрации, равной о-фенантролину. В представленном ниже ряду хелаторов каждый последующий вытесняет из комплекса предыдущий: аскорбат, глутатион, цистеин, цитрат, о-фенантролин, ЭДТА. То есть более мощный хелатор вытесняет более слабый. Но взаимодействие комплекса с более мощным хелатором не способствует разрушению связи Fe-NO. В момент смены хелаторов NO-группа доступна для мишени, имеющей к ней химическое сродство. Передача, по-видимому, происходит непосредственно, без выхода NO в окружающую среду. Но после формирования нового комплекса эта способность утрачивается.

Конкуренция таких хелаторов, как, например, цистеин и глутатион - вполне возможные в организме процессы. Заметим, что роль хелаторов могут выполнять отдельные части апофермента тех ферментов, на активность которых оказывает эффект NO: аденилат-циклаза, каспаза. В таком случае передача NO-группы на мишень зависит от способности последней нарушить комплекс ДНКЖ. Этим может объясняться специфичность физиологического действия NO.

Предлагаемый механизм передачи NO на мишень объясняет и причину незначительного содержания нитрита в большинстве живых тканей в норме. Получается, что нитрит может образоваться только при полном разрушении ДНКЖ. Либо при его взаимодействии с активными формами кислорода [3].

Список литературы:

1. Vanin A. Dinitrosyl iron complexes with thiolate ligands: Physico-chemistry, biochemistry and physiology. // Nitric Oxide. 2009. Vol. 21. P.1–13.
2. Rassaf T., Preik M., Kleinbongard P., Lauer T., He, Ch., Strauer B-E., Feelisch M., Kelm M. Evidence for in vivo transport of bioactive nitric oxide in human plasma. // J. Clin. Invest. 2002. Vol. 109. N 9. P. 1241-1248.

3. Титов В.Ю., Осипов А.Н., Крейнина М.В., Ванин А.Ф. Особенности метаболизма оксида азота в норме и при воспалении. // Биофизика. 2013. Т. 58, №5. С. 857-870.
4. Titov, V.Yu., Kondratov, G.V., Ivanova, A.,V. Specific Role of Nitric Oxide (NO) in Avian Embryonic Myogenesis. // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2015. vol. 158. N 4. p. 508-512.
5. Severina I., Bussygina O., Pyatakova N., Malenkova I., Vanin A. Activation of soluble guanylate cyclase by NO donors – S-nitrosothiols, and dinitrosyl-iron complexes with thiol-containing ligands // Nitric Oxide. 2003. Vol. 8. P. 155-163.

Е.И. Сокол, Т.М. Бархоткина, Т.В. Бернадская, Р.С. Томашевский, Д.А. Долинин

3D МОРФОЛОГИЯ ЭРИТОРОЦИТОВ КАК УНИВЕРСАЛЬНЫЙ ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ И ПРОГНОСТИЧЕСКИЙ КРИТЕРИЙ.

*Национальный технический университет «Харьковский политехнический институт»,
Харьков, Украина*

В работе проведен анализ методов оценки влияния озона на клеточную мембрану и последующих эффектов. Предложен метод визуального и количественного контроля степени воздействия озона на мембрану. Разработана и приведена оптическая схема голографического интерференционного микроскопа.

Ключевые слова: озонотерапия, клеточная мембрана, микроскопия, интерференционная голография

The paper analyzed the level of methods for assessing the effect of ozone on the cell membrane and subsequent effects. A method for visual and quantitative monitoring of the degree of exposure to ozone on the membrane. Designed and shows the optical scheme of holographic interference microscope.

Keywords: ozone therapy, cell membrane, microscopy, holography interference

В настоящее время является доказанным, что все элементарные биологические процессы в организме человека начинаются на уровне мембраны клетки. Это касается и различных патологических состояний и действия многих лекарственных препаратов.

Основные саногенетические эффекты озона также связаны с воздействием на клеточную мембрану, что показано в работах Г.А. Бояринова, С.П. Перетягина, К.Н. Конторщиковой [1]. Однако методы и результаты, представленные в этих работах позволяют только косвенно установить факт воздействия озона на мембрану.

Мы предлагаем очень простой и очень информативный способ определения состояния плазматических мембран и степени их изменения под влиянием озона. Принцип предлагаемого нами способ заключается в использовании оптического прибора, основанного на методе голографической микроскопии в сочетании с компьютерной обработкой изображений.

Методы голографической микроскопии фазового контраста и голографический метод интерференционного контраста в сочетании с методами компьютерной обработки изображений позволяют решать задачу трехмерной визуализации фазовых микрообъектов, в частности эритроцитов. Проблема оказалась настолько актуальной, что в последние годы предложены различные варианты цифровых голографических микроскопов [2].

В частности, голографические микроскопы построены по схемам Линника и Маха-Цендера в линзовом или безлинзовом варианте, по схемам интерферометра Миро. Однако наряду с неоспоримыми достоинствами эти методы имеют ряд недостатков: необходимость точной настройки, высокая чувствительность к вибрациям, сложность реализации, высокая стоимость, значительные aberrации, большое количество оптических элементов высокой стоимости.

Мы разработали следующую принципиальную оптическую схему цифрового голографического интерференционного микроскопа.

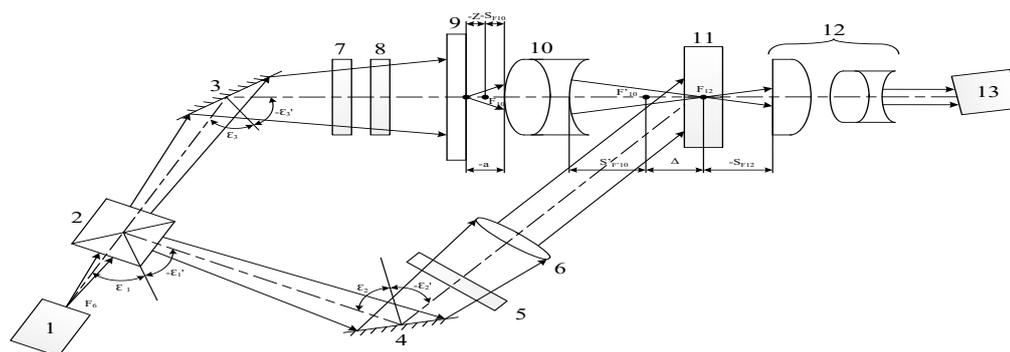


Рис. 1. Оптическая схема голографического интерференционного микроскопа:
 1 – Источник света (лазер); 2 – Светоделительный куб; 3 – Зеркало; 4 – Зеркало;
 5 – Поляризатор; 6 – Коллиматор; 7 – Поляризатор; 8 – Поляризатор; 9 – Пластина с образцом; 10 – Объектив микроскопа; 11 – Голографическая пластина; 12 – Окуляр микроскопа; 13 – Цифровая камера.

Исследуемый образец 9 освещается когерентным пучком лучей, который излучается полупроводниковым лазером 1 с длиной волны излучения $\lambda = 638$ нм. С помощью светоделительного кубика 2 пучок света разделяется на две оптические ветви. Одна из оптических ветвей предназначена для опорного пучка лучей, вторая – для объектного. Для изменения направления хода луча в оптических ветвях используют зеркала 3 и 4. В оптической ветви опорного пучка лучей, необходимого для записи и восстановления по голограмме объектной волны, расположен коллиматор 6, который строит изображение источника света в бесконечности. В оптической ветви объектного пучка лучей расположен микроскоп, увеличение которого должно быть $\Gamma_{\text{мик}} \geq 400^x$. Учитывая, что $\Gamma_{\text{мик}} = \beta_{\text{об}} \cdot \Gamma_{\text{ок}}$, выбираем один из возможных вариантов: увеличение объектива $\beta_{\text{об}} = 40^x$ и увеличение окуляра $\Gamma_{\text{ок}} = 10^x$.

Пластина с образцом крови устанавливается на расстоянии $-a$ от передней поверхности объектива микроскопа 10,

$$-a = -f_{об} + (-z).$$

где $-f$ – переднее фокусное расстояние объектива микроскопа

$-z$ – расстояние от переднего главного фокуса объектива микроскопа до пластины с образцом.

$$-f = \beta_{об} \cdot z,$$

Если принять $-z = 5$ мм, то $-f_{об} = 200$ мм, следовательно $-a = 205$ мм.

Числовая апертура объектива $A=0,7$, что обеспечивает большую разрешающую способность и светосилу объектива.

Объектив микроскопа 10 создает изображение на голографической пластине 11, с которой должен совпадать передний фокус окуляра. 12.

Так как выбранный окуляр 12 имеет увеличение $\Gamma_{ок} = 10^x$, то учитывая, что

$$\Gamma_{ок} = 250/f'_{ок}, \text{ следовательно } f'_{ок} = 25 \text{ мм.}$$

Расстояние от передней поверхности окуляра 12 до голографической пластины 11 соответствует переднему фокальному отрезку окуляра микроскопа.

Расстояние между объективом 10 и окуляром 12 L рассчитывается таким образом:

$$L = z'_{об} + f'_{ок}$$

$$\Delta_{мик} = z'_{об} \cdot \beta_{об} = z'_{об} \cdot f'_{об} = 40 \cdot 200 = 8000 \text{ мм}$$

$$L = 8000 + 25 = 8025 \text{ мм}$$

Таким образом, вся схема получается очень громоздкой. Что не позволяет поучить адекватный измерительный прибор. Поэтому мы предлагаем вариант получения требуемого увеличения не в одну ступень, – микроскопом, а в две ступени - микроскоп совместно с телескопической системой. Целесообразно применить телескопическую систему Галилея, которая может давать два вида увеличения: в прямом и обратном видах. К тому же, телескопическая система Галилея имеет меньший габаритный размер по сравнению с телескопической системой Кеплера.

Качество и контраст голограммы и интерферограммы регулируется за счет введения в оптические ветви поляризационных светофильтров 5,7 и 8. Используются голографические пластины ПФГ-03.

Интерферограммы исследуемого образца регистрируются с помощью цифровой видеокамеры и в дальнейшем обрабатываются на компьютере.

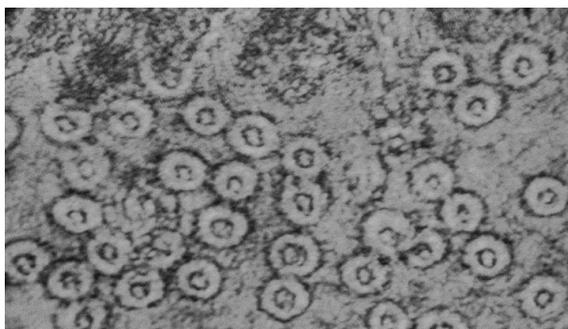


Рис. 2. Изображение эритроцитов под обычным оптическим микроскопом

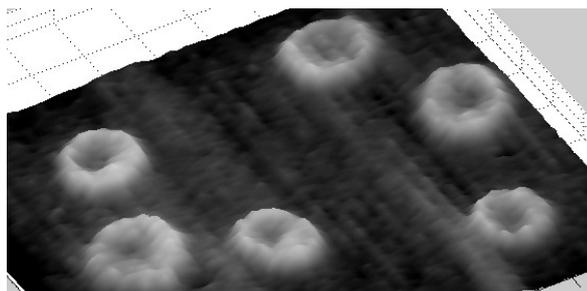


Рис. 3. Изображение эритроцитов в голографическом интерференционном микроскопе

Нами проведены следования состояния эритроцитов при различных заболеваниях воспалительного и гипоксического генеза. Определено влияние различных доз озона на мембраны эритроцитов *in vitro* [3]. Также проведены исследования *in vivo* динамики состояния мембран эритроцитов в зависимости от метода системной озонотерапии (раствор или БАГТО) и дозы озона при ряде заболеваний. На основании полученных данных разработаны прогностические и диагностические критерии использования различных технологий озонотерапии в лечении ряда заболеваний.

Список литературы

1. Перетягин С.П. Патологическое обоснование озонотерапии постгеморрагического периода. Дисс ..д-ра мед наук. Нижний Новгород, 1991. С. 12-14.
2. Черная В.В., Боровицкий В.Н. Сравнительный анализ современных голографических и интерференционных микроскопов //Вимірювальна та обчислювальна техніка в технологічних процесах. 2010. №2. С. 36-43.
3. Бархоткина Т.М., Кудь А.А., Титарь В.П., Тишко Т.В. Деформабельность эритроцитов периферической крови как интегральный показатель эффективности озонотерапии // Общая реаниматология. 2006. Т. II, №4/1. С. 294-297.

РАЗДЕЛ II. КЛИНИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ ОЗОНОТЕРАПИИ В КЛИНИКЕ ВНУТРЕННИХ БОЛЕЗНЕЙ, НЕВРОЛОГИИ, ХИРУРГИИ, ТРАНСФУЗИОЛОГИИ

Е.И.Сычева

ПРИМЕНЕНИЕ ОЗОНОТЕРАПИИ И УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА В ПРОФИЛАКТИКЕ И ЛЕЧЕНИИ ИБС

Центральный клинический санаторий им. Ф.Э.Дзержинского, Сочи, Россия

Заболевания, обусловленные атеросклерозом, и в первую очередь ишемическая болезнь сердца остаются основной причиной смерти во многих странах, в том числе в России. Учитывая актуальность профилактического направления сердечно-сосудистых заболеваний, на анализе результатов обследования более 1800 пациентов рассмотрены саногенетические механизмы и эффективность влияния методов озонотерапии и углекислого газа в виде «сухих» углекислых ванн на реологические показатели крови у пациентов с факторами риска развития ишемической болезни сердца.

Ключевые слова: озонотерапия, углекислые ванны, ишемическая болезнь сердца

Diseases, determined by atherosclerosis, primarily ischemic heart disease, remain the main cause of people's deaths in many countries, including Russia. Taking into account the urgency of cardio-vascular diseases prophylaxis, sanogenetic mechanisms and impact efficacy of methods of ozonotherapy and carbon dioxide in the form of «dry» carbonate baths on rheologic blood indices in patients with risk factors of ischemic heart disease have been studied on the results of the analysis of examination of 1800 patients.

Key words: ozone therapy, carbon bath, coronary artery disease

Сердечно-сосудистые заболевания ежегодно уносят более 15 млн. жизней, в связи с чем, по-прежнему, остаются в центре внимания работников здравоохранения [3]. В перспективном стратегическом плане Минздрава РФ на предстоящие 10 лет в качестве приоритетной государственной политики рассматривается расширение профилактического направления, в частности, сердечно-сосудистых заболеваний. В этой связи к одному из перспективных в медицине направлений следует отнести применение методов «газовой» терапии (ГТ): озонотерапии (ОЗТ) и углекислого газа[2,4].

Целью нашей работы явилась разработка научно-методических основ рационального применения методов «газовой» терапии при выборе тактики первичной и вторичной профилактики сердечно-сосудистых заболеваний на санаторном этапе восстановительного лечения.

Для решения задач настоящего исследования проведено обследование 1847 пациентов с основными факторами риска развития ИБС, из них: женщин - 1111 чел (60,2%), мужчин – 736 чел (39,8%). Под наблюдением находились преимущественно лица трудоспособного возраста со средним возрастом $46,8 \pm 2,02$ лет, с длительностью заболевания или возникновением симптоматики с давностью до 5 лет (52,2%), с незначительным «грузом» сопутствующих заболеваний, что представлялось актуальным для превентивной терапии. Все пациенты получали комплексное санаторно-курортное лечение (СКЛ). ОЗТ проводилась в виде внутривенных капельных инфузий озонированного физиологического раствора (ОФР), полученного на медицинском озонаторе фирмы «Медозон» (Москва), по 200,0мл с концентрацией озона в жидкости 1,2–1,4 мг/л 2-3 раза в неделю. Курс лечения состоял из 3-6 процедур в комплексе санаторно-курортного лечения (1 группа). Углекислый газ применяли в виде сухих углекислых ванн (СУВ) на установке «Реабокс». Дозирование ванн осуществлялось по следующим параметрам: концентрация двуокиси углерода-15-20%, температура-28-32°C, продолжительность 15-20 минут, через день, на курс от 7 до 10 процедур (2 группа). Пациенты 3 (контрольной) группы получали лишь СКЛ.

Проводили: оценку системы гемостаза и реологических параметров крови, включая спонтанную и индуцированную агрегацию тромбоцитов; динамику состояния микроциркуляции с помощью капилляроскопии; анализ показателей липидного и углеводного обмена; определение уровня свободнорадикальных процессов и антиокислительной активности плазмы крови [1].

При анализе липидограмм пациентов с дислипидемией под влиянием озона достоверно снижался средний уровень общего холестерина на 11,8%, триглицеридов на 7,1%, индекса атерогенности на 19,4%. После лечения с применением сухих углекислых ванн выявлена лишь тенденция к снижению показателей общего холестерина и коэффициента атерогенности. В контрольной группе достоверной разницы результатов не получено.

Исследование активности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиокислительной системы (АОС) методом индуцированной биохемиллюминесценции выявило, что в процессе лечения озоном происходила активация антиоксидантной системы, о чём свидетельствовало возрастание отношения I_{\max}/S на 38,0%. Одновременно возникала тенденция к возрастанию интенсивности свечения БХЛ, но без достоверной динамики светосуммы. У лиц после СУВ отмечалось снижение показателя светосуммы на 21,2%, что

отражало уменьшение содержания свободных радикалов в плазме крови. В контрольной группе достоверных изменений показателей БХЛ не отмечено. Анализ промежуточных продуктов ПОЛ в биосубстратах и показателей АОС подтвердил достоверное возрастание после ОЗТ антиоксиданта-супероксиддисмутазы на 11,5% и снижение малонового диальдегида на 8,5%. Применение СУВ также как и ОЗТ вызывало уменьшение количества продуктов ПОЛ: малонового диальдегида на 11,9% и возрастание каталазы эритроцитов на 6,5%. В контрольной группе достоверной динамики продуктов ПОЛ и показателей активности АОС не отмечалось.

Таблица 1. Сравнительная характеристика клинических эффектов методов ГТ.

Эффекты	Озонотерапия	Гиперкапнотерапия
Антигипоксический	+++	+
Метаболический	+++	++
Вазодилатирующий	+	+++
Ваготонический	+	+++
Гипотензивный	+	++
Противовоспалительный	++	+
Дезинтоксикационный	+++	+
Репаративный	+	+
Иммуномодулирующий	++	++
Антистрессорный	++	++
Адаптационный	++	++

Примечание: + ; ++; +++ - наличие изменений различной степени выраженности.

Результаты исследований системы гемостаза подтверждали гипокоагуляционный эффект низких концентраций озона. Отмечалось повышение до нормальных показателей исходно сниженного тромбинового времени, снижение показателей спонтанной и индуцированной агрегации тромбоцитов, снижение повышенного фибриногена. После СУВ и традиционного СКЛ изменения коагулограммы не имели достоверной разницы исходных и полученных после курсового лечения показателей. Положительное влияние методов ГТ на микроциркуляцию было подтверждено полученными результатами капилляроскопии. Применение методов «газовой» терапии и, преимущественно озонотерапии, способствовало увеличению скорости капиллярного кровотока, плотности капиллярной сети, уменьшению количества липидных включений, длительности стаза и количества сладжей, уменьшению размеров периваскулярной зоны до нормальных показателей.

В ходе исследования была проведена сравнительная оценка клинических эффектов методов «газовой» терапии (табл. 1). Это позволило дифференцированно применять ОЗТ и СУВ в кардиологической практике.

Список литературы

1. Ермолин С.В., Родичев Б.С., Кузьмина Е.И. Биохемиллюминометр БХЛ-06 – система контроля окислительных лечебных технологий // Тез. Докл. 2-ой Всеросс. конф. «Озон в биологии и медицине». Н.Новгород. 1995. с.109-110.
2. Масленников О.В., Конторщикова К.Н. Руководство по озонотерапии. Н.Новгород, 2012, 272 с.
3. Оганов Р.Г., Масленникова Г.Я. Смертность от сердечно-сосудистых и других неинфекционных заболеваний среди трудоспособного населения России // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2002. №3. С. 4-8.
4. Сорокина Е.И. Сухие углекислые ванны в лечении и профилактике. Москва, 2004. 110 с.

О.В. Масленников, М.В. Ведунова, И.А. Грибкова

ПРИМЕНЕНИЕ ОЗОНОТЕРАПИИ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ, АССОЦИИРОВАННЫХ С АТЕРОСКЛЕРОЗОМ

Нижегородская медицинская государственная академия, Нижний Новгород, Россия

В работе представлены материалы по применению озонотерапии у 154 больных ИБС, 102 больных СД, 84 больных ГБ, которым проводились процедуры общего воздействия в виде внутривенного введения озонированного физраствора, большой или малой аутогемотерапии, ректальных инсуффляций озонокислородных смесей. Изучались данные клинической симптоматики, общепринятые показатели липидного обмена. Характеристика изменений гемостаза оценивалась по сдвигам АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов. Динамика показателей оксида азота исследовалась на основании изменений его стабильных метаболитов – нитратов и нитритов крови. О состоянии эндогенной интоксикации судили по сдвигам молекул средней массы в крови.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, сахарный диабет, гипертоническая болезнь, озонотерапия

The efficacy and mechanisms of action of ozone therapy in ischemic heart disease, hypertension and diabetes were studied. It was examined 154 patients with ischemic heart disease, 102 patients with diabetes, 84 patients with hypertension who had the intravenous injection of ozonated saline, major or minor autohemotherapy, rectal ozone-oxygen mixtures insufflate. We studied the data of clinical symptoms, common indicators of lipid metabolism, hemostasis, the concentration of metabolites of nitric oxide (nitrates, nitrites) of blood. On the state of endogenous intoxication was judged by the changes of average weight molecules in blood. Thus, the studies have been shown that ozone therapy in diseases associated with atherosclerosis, has divers actions and a positive clinical effect.

Key words: ischemic heart disease, hypertension, diabetes, ozone therapy

Целью работы явилось изучение эффективности и механизмов воздействия озонотерапии при заболеваниях, обусловленных и связанных с атеросклерозом, которые являются самыми распространенными в мире и остаются основной причиной смерти. Речь идет об ишемической болезни сердца (ИБС), гипертонической болезни (ГБ) и сахарном диабете (СД).

ИБС является прямым следствием атеросклеротического поражения коронарных сосудов. ГБ и атеросклероз развиваются содружественно, сложно переплетаются патогенетически,

взаимно отягощают друг друга, приводят к сходным сердечно-сосудистым осложнениям. СД способствует не только возникновению микроангиопатий, но и ускоренному развитию атеросклероза с поражением крупных и средних артерий. ИБС, являющаяся одним из проявлений диабетической макроангиопатии встречается в 3 раза чаще, чем у больных без сахарного диабета.

Результаты и обсуждение

В наших предыдущих работах продемонстрирована высокая эффективность озонотерапии в отношении клинических проявлений рассматриваемых болезней. На материале больных ИБС показано, что хорошие результаты лечения (ликвидация более 50% симптомов) были достигнуты у 91% пациентов. Аналогичные результаты были получены в группе больных СД – у 90% больных 1 типа и 88% - 2 типа. Положительные показатели разной степени выраженности установлены у всех больных ГБ, которым применялась озонотерапия (1).

Несмотря на определенные различия в патогенезе развития атеросклероза этих заболеваний основными его звеньями являются нарушения липидного обмена, активация перекисного окисления липидов, сдвиги реологических свойств крови, воздействие на эндотелий сосудов.

В соответствии с нашими и литературными данными озонотерапия характеризуется мощными системными эффектами. Они выражаются в активации транспорта кислорода, оптимизации работы митохондриальной цепи дыхания, вазодилатации артериол и посткапиллярных венул, улучшении реологии и микроциркуляции (2,3,4).

При изучении динамики показателей липидного обмена было установлено, что у больных ИБС после курса озонотерапии наблюдалось снижение общего холестерина во всех случаях, где он был изначально повышен (68% больных) в среднем на 10%. У больных ГБ это снижение составило 5%. У пациентов с СД - 9% . Снижение уровня липопротеидов низкой плотности составило соответственно: 12,5%, 9,6%, 8%. Динамика триглицеридов также выражалась в их снижении: у больных ИБС на 22%, больных ГБ – на 24%, больных СД на – 17%. Коэффициент атерогенности у больных с ИБС и ГБ низился на 12%, у больных с СД на 18%. Т.е. полученные результаты свидетельствуют об отчетливом гиполипидемическом воздействии озонотерапии на все группы исследуемых больных.

Для заболеваний, ассоциированных с атеросклерозом, характерными являются нарушения реологии крови. В наших наблюдениях до лечения отмечалось значительное повышение одного из основных показателей гемостаза – агрегации тромбоцитов. После курса озонотерапии у всех пациентов наблюдалась положительная динамика . Это выражалось в

снижении АДФ-индуцированной агрегации у всех групп больных. У больных ИБС с 13,37% до 7,28%, у больных ГБ с 15,8% до 6,42%, у больных СД с 14,3% до 7,76%.

Значимой оказалась динамика показателей стабильных метаболитов оксида азота – нитратов и нитритов. У больных ИБС уровень нитратов в крови до лечения находился на низком уровне и составлял в среднем 14,78 мкмоль/л. После курса озонотерапии наблюдалось его повышение до 21,86 мкмоль/л.

У 40% больных ГБ уровень нитратов исходно оказался повышенным – 30,95 мкмоль/л. В этой группе лечение озоном привело к снижению показателя до 23,51 мкмоль/л. У 60% пациентов ГБ до лечения наблюдались низкие значения нитратов – 14,05. Применение озонотерапии привело к их увеличению до 21,26 мкмоль/л.

Для СД характерным оказалось повышение нитратов у всех больных, которое составляло 30,99 мкмоль/л. После озонотерапии их количество снизилось до 22,54 мкмоль/л.

Схожими оказались изменения показателей нитритов крови. У больных ИБС применение озонотерапии привело к их повышению с 18,09 до 27,8 мкмоль/л.

Больные с ГБ по показателю уровня нитритов разделились на 2 группы. В одной (40% пациентов) он оказался повышенным – 37,48 мкмоль/л и после курса озонотерапии наблюдалось его снижение до 24,32 мкмоль/л. У другой группы (60% больных) сниженный показатель после лечения повысился с 14,52 до 24,4 мкмоль/л.

По динамике показателей нитритов больные с СД также разделились на 2 группы. У 80% пациентов их исходный уровень был повышен, применение озонотерапии снизило его с 35,52 до 24,83 мкмоль/л. У остальных 20% больных исходно сниженный уровень после лечения повысился с 12,85 до 25,14 мкмоль/л.

Уровню оксида азота при сердечно-сосудистых заболеваниях придается большое значение, характеризуя его как релаксирующий эндотелиальный и антиагрегантный фактор. Повышение оксида азота расценивается как способствующее вазодилатации. Однако в последних работах показано, что при ряде патологий оксид азота в больших количествах вырабатывается макрофагами и отображает уровень эндогенной интоксикации и воспаления (5). Различные исходные уровни метаболитов оксида азота у больных с ГБ и СД следует по-видимому связывать с наличием разной степени эндотоксикоза. Но наиболее существенным следует признать факт разнонаправленного нормализующего действия озонотерапии на содержание метаболитов оксида азота в крови, повышающего или снижающего его в зависимости от первоначальных цифр. Это подчеркивает значение дезинтоксикационного механизма озонотерапии, выравнивающего показатели, способствующего выходу на вазодилатирующий уровень.

Подтверждением выше изложенному является изучение количества молекул средней массы в крови, как известного показателя эндогенной интоксикации. Во всех группах больных он оказался исходно повышенным, а использование озонотерапии приводило к снижению при ИБС на 17%, при ГБ на 18%, при СД на 16% в плазме крови и соответственно на 17%, 18% и 16% в эритроцитах.

Заключение

Таким образом, проведенные исследования показали, что озонотерапия при заболеваниях, ассоциированных с атеросклерозом, оказывает многоплановое действие, обеспечивающее положительный клинический эффект.

Список литературы

1. Перетягин С.П. Механизмы лечебного действия озона при гипоксии. // Озон в биологии и медицине. Н.Новгород. 1992. С.4-5.
2. Быков А.Т., Конторщикова К.Н., Сычева Е.И. Влияние озона на биохимические показатели крови у больных ишемической болезнью сердца. // Озон и методы эфферентной терапии в медицине. Н.Новгород. 2000. С. 47.
3. Масленников О.В., Конторщикова К.Н., Шахов Б.Е. Руководство по озонотерапии. Н.Новгород, 2015.
4. Змызгова А.В., Максимов В.А. Клинические аспекты озонотерапии. Москва, 2003.
5. Окрут И.Е. Экспериментальное изучение дозозависимого эффекта озона на уровень оксида азота цельной крови // Общая реаниматология. 2006. Т. II, №4/1. С. 208-210.

Г.В. Титова

О ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ СИСТЕМНОЙ ОЗОНОТЕРАПИИ ПРИ ПЕЧЁНОЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ

ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, Москва, Россия

Озон обладает высокой реактивной способностью и активно вступает в реакции с разными биологическими объектами, в частности со структурами клеток. В роли основной мишени биологического действия озона на клетку выступают плазматические биомембраны, при этом заметно усиление репродуктивной способности клеток при низких дозах озона и гибель их при высоких дозах. Результаты многих исследований показывают, что озон может действовать как слабый индуктор цитокинов, продуцирующих IL-6, IL-4, TNF- α , IFN- γ , IL-2 и IL-10 и, что самое главное, есть значительное отношения между производством цитокинов и концентрацией озона.

Озон-кислородная смесь активизирует как клеточный, так и гуморальный иммунитет. Под ее воздействием усиливается выработка лимфоцитами и моноцитами цитокинов, в первую очередь интерферона, одного из важнейших факторов эндогенной защиты организма от вирусной инфекции. В результате повышается синтез Т-киллеров, осуществляющих клеточный иммунитет, нормализуется функция В-лимфоцитов, продуцирующих иммуноглобулины. Все вышеперечисленное способствует ликвидации воспалительного процесса. Озонирование способствует повышению пластичности эритроцитов, улучшению архитектоники поврежденных печеночных долек, уменьшению явлений печеночной белковой дистрофии, торможению перекисного окисления липидов, активации белково-синтетической и гликогенсинтетической функций печени, нормализации синтеза отдельных ферментов и регуляции обменных процессов, т.е. озонирование снижает влияние ишемического фактора в развитии печеночной недостаточности.

Положительное влияние на гемостаз сказывается в снижении агрегационной способности тромбоцитов. Повышается фибринолитическая активность крови, препятствуя таким образом развитию вторичного реактивного воспаления. Активный кислород увеличивает упругость и деформабельность эритроцитов, что улучшает их кислородтранспортную функцию, а, следовательно, это положительно отражается на микроциркуляции и оксигенации тканей организма. Ликвидируется дисбаланс между окислительными свободнорадикальными процессами и синтезом эндогенных антиоксидантов. На уровне целостного организма происходит оптимизация центральной и системной гемодинамики, дыхания, улучшение периферического кровообращения, повышение иммунологического статуса. Тормозятся процессы перекисного окисления

липидов и одновременно активизируется антиоксидантная защита организма. Заметно улучшаются показатели системной и внутрипеченочной микроциркуляции. Следует подчеркнуть, что по данным исследований, лечение переносится хорошо, ухудшения состояния или осложнений выявлено не было.

О.В.Лапшина¹, А.В. Густов¹, К.Н. Конторщикова^{1,2}, А.В. Баранова²

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ОЗОНОТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ МИАСТЕНИЕЙ

¹Нижегородская государственная медицинская академия

²Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского

Миастения – тяжелое заболевание, приводящая к инвалидизации пациентов и частым летальным исходам, что определяет высокую актуальность поиска патогенетически обоснованных методов повышения эффективности лечения этой патологии. Активация свободнорадикального окисления является важным звеном патогенеза ряда аутоиммунных заболеваний, в том числе миастении гравис. В работе представлено исследование окислительного гомеостаза у 20 пациентов с миастенией. Продемонстрировано изменение окислительного гомеостаза у пациентов с миастенией по сравнению с нормой. Обнаружено положительное влияние озонотерапии на процессы свободно-радикального окисления, что позволяет считать озонотерапию патогенетически обоснованным методом лечения миастении.

Myasthenia gravis is a serious illness leading to disability of patients and frequent deaths, which has led to the high relevance in the search for pathogenetical methods to increase the efficiency of treatment of this pathology. The activation of free radical oxidation is an important link in the pathogenesis of several autoimmune diseases, including myasthenia gravis. In the study of oxidative homeostasis in 20 patients with myasthenia gravis, there were changes of oxidative homeostasis in patients as compared with healthy volunteers. There were analyzed dynamics of indicators of oxidation processes and antioxidant activity when included in the therapeutic complex of ozone therapy. There was a positive influence of ozone therapy on the processes of free radical oxidation, which makes ozone therapy pathogenetically substantiated method of treatment of myasthenia gravis.

Key words: ozone, myasthenia, oxidation processes and antioxidant activity.

Миастения – хроническое аутоиммунное заболевание, характеризующееся нарушением нервно-мышечной передачи вследствие образования аутоантител к различным аутоантигенным эпитопам периферического нейромышечного аппарата, клинически проявляющееся слабостью и патологической мышечной утомляемостью [1,3,9]. Тяжесть заболевания, приводящая к инвалидизации пациентов, и частота летальных исходов определяют высокую актуальность поиска наиболее эффективных методов лечения этой патологии.

Важным звеном в патогенезе аутоиммунных заболеваний, в том числе миастении гравис, является активация свободнорадикального окисления [5]. Активация перекисного окисления липидов в значительной степени усугубляет течение заболевания [2,10].

Озонотерапия – один из немедикаментозных методов лечения, использующийся в различных областях медицины: терапии, хирургии, акушерстве и гинекологии, дерматологии, косметологии, стоматологии, неврологии, гастроэнтерологии и других [7]. Несмотря на высокую реакционную способность, установлено селективное действие озона на органические молекулы, содержащие двойные связи, в основном на полиненасыщенные жирные кислоты, входящие в состав липидного бислоя клеточных мембран и липопротеидов плазмы крови с образованием промежуточных продуктов – озонидов [1,4, 6,7,8,9].

Цель исследования - изучение показателей процессов свободнорадикального окисления у пациентов с миастенией до и после озонотерапии.

Материал и методы исследования.

Анализ показателей перекисного окисления липидов в сыворотке крови проведен у 20 пациентов с миастенией в генерализованной форме. Среди пациентов было 6 мужчин, 14 женщин. Средний возраст составил 48,4 лет (от 29 до 77 лет). Все пациенты получали стандартное лечение, включавшее пульс-терапию дексаметазоном, антихолинэстеразные препараты, препараты калия, калийсберегающие диуретики. Пациенты первой группы (10 человек) получали только стандартную терапию. Пациенты второй группы (10 человек) на фоне стандартной терапии получали внутривенные инфузии озонированного физиологического раствора (ОФР) в количестве 6 процедур через день с концентрацией озона 0,5 мг/л. Больные из первой и второй групп были сопоставимы по возрасту, полу и клинической картине заболевания. Группу сравнения составили здоровые добровольцы (14 человек), сопоставимые с пациентами по возрастно-половым характеристикам. Активность свободнорадикального окисления оценивали методом индуцированной железом и перекисью водорода биохемиллюминесценции (БХЛ) до и после лечения в сравнении с показателями у здоровых добровольцев. Для регистрации биохемиллюминесценции использовали аппарат биохемиллюминометр (БХЛ-07), сопряженный с компьютером IBMPC/AT в диалоговом режиме. Анализировали следующие параметры: индекс I_{\max} (мВ) – максимальная интенсивность свечения, характеризующая потенциальную способность биологического объекта к свободнорадикальному окислению; индекс S (мВ) – светосумма хемиллюминесценции за 30 секунд – величина, соответствующая обрыву цепи свободнорадикального окисления, и поэтому обратно пропорциональная антиоксидантной активности сыворотки крови, $\text{tg}(-2\alpha)$ – показатель антиоксидантной системы защиты, характеризующий скорость ее восстановления, индекс Z – отношение индексов S/I_{\max} ,

характеризующий уровень антиоксидантной защиты. Определение уровня продуктов перекисного окисления липидов (первичных -диеновых конъюгатов (ДК), триеновых конъюгатов (ТК) и конечных - оснований Шиффа (ОШ) проводили методом Волчегорского И.А. (1989). Статистическая обработка материала осуществлялась с помощью пакета программ Statistika.

Результаты

При исследовании окислительных процессов у пациентов с миастенией до лечения обнаруживалось значительное повышение показателей индуцированной БХЛ по сравнению с таковыми у здоровых добровольцев. Так, I_{\max} была повышена в 7,1 раза, $\text{tg}(-2\alpha)$ – в 7,9 раза., что указывало на значительную активацию процессов свободнорадикального окисления у пациентов с миастенией (табл. 1).

Таблица 1. Показатели окислительного стресса сыворотки крови больных миастенией по сравнению с нормой (здоровые добровольцы)

Показатели	Пациенты с миастенией	Здоровые добровольцы	Уровень значимости различий p
I_{\max} , мВ	386,8±62,3	54,4±2,5 ¹²³	p=0,023
S, мВ	1666,2±223,1	233,4±9,7 ¹²³	p=0,042
Z	4,7±0,3	4,5±0,2	p=0,028
$\text{tg}(-2\alpha)$	184,5±32,2	23,3±1,5 ¹²³	p=0,032
ДК, отн. ед.	0,2632± 0,0029	0,2268± 0,0126 ¹³	p=0,035
ТК, отн. ед.	0,2600± 0,0114	0,2383± 0,0274 ¹	p=0,041
ОШ, отн. ед.	58,2046± 5,6970	31,8513± 1,3673 ¹²	p=0,025
ОШ/ (ДК+ТК)	108,7250± 8,7136	73,4842± 4,4201 ¹²	p=0,022

Во второй группе больных, получавших наряду со стандартным лечением озонированный физиологический раствор, значения I_{\max} , S, $\text{tg}(-2\alpha)$ после лечения значимо снижались, а значения Z увеличивались, что указывало на повышение антиоксидантной активности крови под действием озона. У больных данной группы отмечалось снижение

активности свободнорадикальных процессов, что проявлялось однонаправленной тенденцией к уменьшению продуктов ПОЛ.

Таблица 2. Показатели окислительного стресса сыворотки крови больных миастенией до и после лечения

Показатели	Первая группа (стандартная терапия)	Вторая группа (стандартная терапия + ОФР)	Уровень достоверности различий p
I_{\max} , мВ	354,1±98,5	154,3±47,4 ¹	p=0,026
S, мВ	1523,7±396,2	836,8±301,6 ¹	p=0,032
Z	5,0±0,3	5,4±0,4	p=0,031
tg(-2α)	168,2±49,2	62,8±20,0 ¹	p=0,045
ДК, отн. ед.	0,257±0,007	0,264±0,001	p=0,017
ТК, отн. ед.	0,244±0,020	0,245±0,011	p=0,022
ОШ, отн. ед.	67,302±13,272	45,969±7,972	p=0,028
ОШ/(ДК+ТК)	136,209±26,046	88,777±13,945	p=0,025

У больных из первой группы подобной динамики показателей окислительных процессов не отмечено. Таким образом, выявленное повышение показателей индуцированной биохемиллюминесценции и уровня продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови больных миастенией свидетельствует о нарушении процессов свободнорадикального окисления, сопровождающихся снижением работы и скорости восстановления антиоксидантной системы защиты, повышением продукции свободных радикалов, а также накоплением первичных и конечных продуктов перекисного окисления липидов. Это подтверждает значимость окислительного стресса в патогенезе заболевания. Включение в терапевтический комплекс озонированного физиологического раствора является патогенетически обоснованным, поскольку способствует восстановлению окислительного гомеостаза.

Список литературы

1. Алекберов Д.Г., Потанин В.П., Белопухов В.М. Биологические механизмы озонотерапии и эффективность его применения в медицине // Пермский медицинский журнал. 2007. Т. 14. №4. С.138-141.
2. Васильева Е.М., Баканов М.И. Биохимические изменения при неврологической патологии // Биомедицинская химия. №6. С.581-602.

3. Конькова Д.Ю. История исследования миастении: от описания симптомов до изучения патогенеза // Дальневосточный медицинский журнал. 2015. №1. С.103-107.
4. Куликов А.Г. Озонотерапия – эффективный физический метод лечения и реабилитации // Медиаль. 2013. №4 (9). С.8-9.
5. Лобзин С.В., Чухловина М.Л., Руденко Д.И., Косачев В.Д. Способ прогнозирования осложнений тимэктомии у больных миастенией // Иммунология. 1981. №3. С. 55-58.
6. Малахов В.А., Джанелидзе Т.Т. Озонотерапия в неврологии // Международный неврологический журнал. 2008. №2. С.152-159.
7. Масленников О.В., Конторщикова К.Н. Практическая озонотерапия. Пособие. Нижний Новгород: «Вектор – ТиС», 2003. 52 с.
8. Миненков А.А., Филимонов Р.М., Покровский В.И., Змызгова А.В., Побединский Н.М. Основные принципы и тактика озонотерапии. Пособие для врачей. М. 2001. 37 с.
9. Санадзе А.Г. Миастения и миастенические синдромы. М.: ЛитТерра, 2012. 255 с.
10. D., Di Dalmazi G., Hirshberg J., Lyle Freij J.B., Caturegli P. Reactive oxygen species in organ-specific autoimmunity // Autoimmunity Highlights. Vol. 7(1).<http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs13317-016-0083-0#article-dates-history>.

И.Л. Довгий

ОЗОНОТЕРАПИЯ И АКУПУНКТУРА В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ САХАРНОГО ДИАБЕТА И ЕГО ОСЛОЖНЕНИЙ

*Национальная медицинская академия последипломного образования
им. П.Л.Шупика, Киев, Украина*

Цель работы: оценка эффективности применения озонотерапии и акупунктуры в комплексном лечении сахарного диабета и его осложнений.

Материал и методы исследования: проанализированы результаты лечения 208 пациентов в возрасте от 32 до 81 лет с сахарным диабетом 2 типа и его осложнениями: диабетической полиневропатией 68 (32,7%), синдромом диабетической стопы 56 (26,9%), диабетической ретинопатией 110 (52,8%), диабетической нефропатией 14 (6,7%).

Результаты. Пациенты были разделены на две группы: 1-ю группу составили 104 пациентов, которые получали комплексную стандартную терапию; 2-ю группу составили 104 пациента, которые дополнительно к стандартному лечению применяли внутривенное введение озонированного физиологического раствора с концентрацией озона в растворе 2,0 мг/л в количестве 200 мл 3 раза в неделю 7–8 процедур.

Вывод: применение озono-кислородной терапии в сочетании с акупунктурой, а также физиотерапией показало эффективность комплексного лечения сахарного диабета 2 типа и его осложнений – диабетической полиневропатии, синдрома диабетической стопы, диабетической ретинопатии, а также диабетической нефропатии.

Ключевые слова: сахарный диабет, диабетическая полиневропатия, синдром диабетической стопы, диабетическая ретинопатия, диабетическая нефропатия, озонотерапия, акупунктура, иглоукалывание.

Objectives: evaluation of ozone therapy and acupuncture efficacy for complex treatment of diabetes mellitus and its complications.

Materials and methods of study: The study analysed treatment outcomes of 208 patients aged 32 to 81 with diabetes mellitus type 2 and its complications: diabetic polyneuropathy 68 (32.7%), diabetic foot 56 (26.9%), diabetic retinopathy 110 (52.8%), diabetic renal disease 14 (6.7%).

Results. The patients were randomized into 2 groups: The 1st one included 104 patients who received a standard complex therapy; and the 2nd one in which 104 patients additionally to the conventional treatment were intravenously administered 200 ml of ozonized normal saline with ozone concentration 2.0 mg/l 3 times a week with a total number of 7-8 procedures.

Conclusion: the administration of ozone-oxygen therapy combined with acupuncture and physiotherapy has shown the efficacy of a complex treatment of diabetes mellitus type 2 and its complications, such as diabetic polyneuropathy, diabetic foot, diabetic retinopathy, and diabetic renal disease.

Key words: Diabetes mellitus, diabetic polyneuropathy, diabetic foot, diabetic retinopathy, diabetic renal disease, ozone therapy, acupuncture, needle therapy.

Большинство больных сахарным диабетом (СД) страдают от диабета 2 типа. Именно его все более часто называют "болезнью цивилизации", а еще конкретнее "сладкой иронией современной технологии".

По данным Всемирной организации здравоохранения 422 миллиона человек (2016 г.) во всем мире страдают от диабета и к 2030 г. СД станет 7-й причиной смерти во всем мире [35]. К тому же 183 млн людей с СД остаются недиагностированными [26].

В развитых европейских странах распространенность СД составляет до 10% в общей популяции, а среди лиц с факторами риска и у пожилых достигает 30% общей численности населения. Характер хронизации СД у пожилых людей является их определяющим фактором качества жизни. СД занимает печальное третье место после сердечно-сосудистой и онкопатологии. Самая ранняя среди всех заболеваний инвалидизация, высокая смертность среди пациентов определили СД в качестве приоритетов в национальных системах здравоохранения всех стран мира [1, 19].

Общий риск смерти среди людей с СД, как минимум, в 2 раза превышает риск смерти среди людей того же возраста, у которых нет диабета [24].

Положение усугубляется тем, что СД характеризуется развитием тяжелых осложнений. Наиболее характерным осложнением СД является развитие микроангиопатий. Микроангиопатия носит генерализованный характер, проявляясь главным образом в сосудах конечностей, сетчатки, почек [7].

У пациентов с полиневропатией любого генеза обязательно нужно исключать наличие СД. Так как диабетические полиневропатии составляют по частоте 30% всех полиневропатий, изменчивы по клиническим проявлениям и течению, до 50% имеют бессимптомную форму. При СД 15–20 лет, периферические нервы поражены в 50–90%. Признаки диабетические полиневропатии диагностируются задолго до развития СД. Суммарно СД можно определить как сочетание симптомов: гипергликемии, микроангиопатии и полиневропатии [18, 4, 3]. Возникает поражение сосудов по всему организму небольшого диаметра (до 30 мкм), но особенно часто поражаются сосуды сетчатки (ретинопатия), почек (нефропатия), дистальных отделов нижних конечностей и периферических нервов (невропатия) [10].

Синдром диабетической стопы встречается в разных формах у 30–80% пациентов СД [6]. Основным фактором в патогенезе синдрома диабетической стопы является инфекция. Еще более ухудшается кровообращение когда инфекция связана с микротромбами в артериолах [23]. Когда присоединяются гнойные процессы – стертая манифестация, склонность к быстрому распространению и формированию обширных зон некроза в сочетании с декомпенсацией углеводного баланса – хорошо известны практическим врачам [2].

При СД, вообще, развитие микро– и макроангиопатии приводит как к общему снижению уровня кислорода в тканях, так и к деградации рецепторного аппарата капилляров [5].

Накопление продуктов углеводного и липидного обмена запускает реакции детоксикации, в т.ч. и свободно-радикальные процессы. Вообще, свободно-радикальные реакции направлены на поддержание гомеостаза, но при высокой интенсивности могут привести к развитию окислительного стресса [13].

Собственно окислительный (оксидативный) стресс лежит в основе не только СД 2 типа, но и развития его поздних осложнений, в частности микро– и макроангиопатий, невропатий, нефропатий [11, 20]. Также возрастающий уровень окислительного стресса и противодействия со стороны антиоксидантных защитных систем сопровождают процесс старения [17].

При СД прогностически неблагоприятным проявлением распространенной микроангиопатии является диабетическая ретинопатия, увеличивающая риск развития слепоты в 25 раз, в результате длительного накопления повреждений мелких кровеносных сосудов сетчатки [7, 33].

Нужно учитывать, что у больных СД основными факторами риска являются дислипидемия (уплотнение и сужение стенок артерий), курение, наследственная предрасположенность, ишемическая болезнь сердца (ИБС) и артериальная гипертензия (АГ) [5].

У 30% больных СД 1 типа с длительностью болезни более 5 лет наблюдается безболезненное ограничение подвижности мелких и крупных суставов, особенно кистей. Полагают, что это провоцирует накопление в соединительной ткани гликированного нерастворимого коллагена [9].

В течение последнего десятилетия цель лечения СД кардинально изменилась. Медикаментозные методы лечения в дополнение к немедикаментозным помогают достичь целевого уровня глюкозы в крови. Нет препарата, который бы действовал одновременно на все механизмы, лежащие в основе развития СД 2 типа. Нет препарата, при использовании которого в качестве монотерапии даже в максимальной дозе длительное время поддерживать надлежащий уровень гликированного гемоглобина (HbA1c). И поэтому более 75% пациентов в Украине находятся в состоянии декомпенсации СД [12].

При лечении, а также профилактике, СД 2 типа и его поздних осложнений нужно учитывать критерии компенсированного состояния пациентов.

Озонотерапия (озоно-кислородная терапия) вмешиваясь в патогенез СД и его осложнений, действует на основные звенья этих страданий. Эффективно корректирует эти нарушения благодаря влиянию на метаболический, иммунный статус, стимуляцию утилизации глюкозы, антиоксидантную активность крови (бактерицидное и фунгицидное действие), перекисное окисление липидов, уменьшает спазм артериол, улучшает скорость кровотока, а также реологию крови и оксигенацию тканей [10, 22].

Озонотерапия является альтернативой, которая помогает снизить дозы лекарств, уменьшает боль и воспаление, повышает иммунитет, что приводит к улучшению качества жизни пациентов [32]. Настает время для полного введения озонотерапии в фармацевтические науки, которая отвечает всем требованиям качества, эффективности и безопасности, а не только в качестве альтернативного подхода [34].

Акупунктура (иглоукалывание) может также исправлять метаболические нарушения, в частности гипергликемию, гиперлипидемию, гиперфагию (переедание), избыточный вес, снижать и контролировать болевой синдром, улучшать функциональное состояние нервов, а также увеличивать синтез инсулина и количество рецепторов на клетках-мишенях [25, 14, 27–29]. Это может быть эффективным при лечении не только СД, но и в предотвращении и эффективном лечении его осложнений [25, 30].

Цель работы: оценка эффективности применения озонотерапии и акупунктуры в комплексном лечении СД и его осложнений.

Материал и методы исследования

В настоящей работе и исследовании проанализированы результаты лечения 208 пациентов (82 мужчин и 126 женщин) с СД 2 типа и его осложнениями: диабетической полиневропатией 68 (32,7%), синдромом диабетической стопы 56 (26,9%), диабетической ретинопатией 110 (52,8%), диабетической нефропатией 14 (6,7%). Сопутствующая патология в виде АГ, ИБС, ожирения, патологии опорно-двигательного аппарата наблюдались у 71,1% пациентов. Лечение и обследовании происходило на базе Киевской клинической обласной больницы в период с марта 2010 г. по декабрь 2017 г. Возраст пациентов от 32 до 81 лет (средний возраст – 56,5 года), длительность заболевания составляла $37,7 \pm 1,9$ лет.

Озонирование проводили 0,9% физиологического раствора непосредственно перед использованием путем барботажа раствора озono-кислородной смесью, до получения концентрации озона в жидкости 2,0 мг/л в количестве 200 мл, 3 раза в неделю 7–8 процедур, с помощью медицинского озонатора «Бозон М».

Есть данные применения при СД 2 типа системного озона методом аутогемотерапии не более 10 сеансов с интервалами 2–3 раз в неделю при промежуточной дозе в соответствии с Мадридской декларации по озонотерапии [31, 21]. По литературным данным и как показывает наш опыт оптимальный курсом лечения СД 2 типа и его осложнений является концентрация озона в жидкости (0,9% физ. раствора) – 2,0 мг/л.

Достижение компенсации состояния пациентов – является одним из главных критериев успешного лечения СД и его осложнений [8].

Критериями компенсации (результатов лечения) были: сохранение трудоспособности, хорошее самочувствие, гликемия натощак 5–6 ммоль/л и в течении дня не выше 11 ммоль/л (при инсулиннезависимом СД), гликемия натощак 6–7 ммоль/л и в течении дня не выше 12 ммоль/л (при инсулинзависимом СД), нормальные показатели обмена липидов, показатели гемоглобина гликозилированного ниже 7% (при инсулиннезависимом СД), ниже 9% (при инсулинзависимом СД).

Использовали опросник Общего Балла Симптомов (Total Symptom Score, или TTS), опросник Балла Невропатических Симптомов (Neuropaty Symptom Score, или NSS), шкалу Диабетической Полиневропатии.

Результаты

Пациенты были разделены на две группы. Первую, контрольную группу, составили 104 пациентов, которые получали комплексную стандартную терапию с применением сахароснижающих препаратов или соответствующей дозы инсулина, а также соответствующее лечение, например при синдроме диабетической стопы.

Вторую, основную группу, составили 104 пациента, которые дополнительно к стандартному лечению применяли внутривенное введение озонированного физиологического раствора с концентрацией озона в растворе 2,0 мг/л в количестве 200 мл 3 раза в неделю 7–8 процедур. Соответственно, пациенты обеих групп были сопоставимы по возрасту, анамнестическим данным, осложнениям СД 2 типа.

Проводили исследования и лечения 68 пациентам с диабетической полиневропатией. Лечение проводили путем введения озонированного физиологического раствора с концентрацией озона 2,0 мг/л 3 раза в неделю, 7–8 процедур. Также проводилось обкалывание озono-кислородной газовой смесью с концентрацией 15 мг/л по ТА и по точкам Валле, которые находились по ходу иннервации соответствующих нервов, 5–10 процедур. Сеансы иглоукалывания применяли у пациентов в зависимости от формы диабетической полиневропатии: точки акупунктуры (ТА) E-36, E-41, RP-3, RP-6, RP-10, VB-26-34, V-41, V-43, V-60 с 2-х сторон, R-1, R-2, V-67 с 2-х сторон по тонизирующей методике, T-3, T-4; аурикулярные точки (AP)-13, AP-22, AP-51, AP-55. Курс лечения – 10–15 сеансов.

При соответствующих синдромах применяли акупунктурные рецепты: при нарушении сердечного кровообращения ТА E-36 эффективна в сочетании с ТА MC-6, J-17; при болях в ступне ТА E-41 эффективна в сочетании с ТА: E-40, RP-5, VB-40; при сердцебиении E-40, VB-35; при болях и отеке в колене ТА RP-10 эффективна в сочетании с ТА E-34, E-36, VB-34, TR-10; при сосудистых расстройствах, заболевании мышц ТА VB-34 эффективна в сочетании с ТА F-3, E-36, IG-18 [15].

Применяли игольчатые эластичные ленты (апликаторы Ляпко) шириной до 3 см, обвращивая ими конечности пациентов. Курс лечения – 3–5 процедур.

При наличии двигательных расстройств назначали чрескожную электростимуляцию нервов и мышц, параметры импульсов устанавливали в соответствии с данными электровозбудимости, 10–12 процедур.

Пациенты с синдромом диабетической стопы (28 человек) получали процедуры наружной озонотерапии в виде газации конечности озоно-кислородной смесью в специальной камере («сапожке») с концентрацией озоно-кислородной газовой смеси 15–25 мкг/мл 2–3 раза в неделю, 7–12 процедур, с длительностью 30 минут. При наличии гнойного процесса в обл. трофических язв, после очистки раны от гноя раствором хлоргексидина, обрабатывали газовую смесь с концентрацией озона 80–100 мг/л.

Курс озонотерапии (в/в введение озонированного физ. раствора с концентрацией озона 2,0 мг/л в количестве 200 мл 3 раза в неделю 7–8 процедур) применяли при диабетической ретинопатии (препролиферативная или пролиферативная стадии); не принимали при ретинопатии, осложненной кровоизлияниями сетчатки глаза или возле нее.

Также при диабетической ретинопатии проводили магнитотерапию (низкочастотное синусоидальное магнитное поле) 8–10 процедур.

Проводили лечение диабетической нефропатии методом озонотерапии путем введения озонированного 0,9% физ. раствора с концентрацией озона 2,0 мг/л 3 раза в неделю, 7–8 процедур.

Применяли сеансы иглоукалывания у пациентов с диабетической нефропатией: добавляли в акупунктурные рецепты ТА V-20, V-23.

При соответствующих синдромах применяли акупунктурные рецепты: при похудении ТА V-20 эффективна в сочетании с ТА V-21, при мышечной слабости, нарушении двигательной функции конечностей с ТА E-40; при ощущении жара в обл. лица, ладонях, подошвах ТА V-23 эффективна в сочетании с ТА MC-6, при отеках и ощущении холода в нижних конечностях с ТА V-18, J-6 [16, 15].

Лечение проводили при консультации эндокринолога и назначении соответствующей терапии при необходимости учитывая стадию хронической почечной недостаточности, метаболические и электролитные нарушения.

Для быстрого повышения уровня глюкозы применяли АР-13, АР-51, АР-95.

Обсуждение и выводы

Анализ результатов лечения 68 пациентов с диабетической полиневропатией: дистальная симметричная невропатия – 52 (76,4%), множественные моновневропатии – 8 (11,7%), симметричная проксимальная двигательная невропатия – 4 (5,8%), вегетативная невропатия – 4 (5,8%). У 38 пациентов (55,8%) было значительное улучшение показателей, в 18 пациентов (26,4%) было заметное улучшение, 8 пациентов (11,7%) отмечали незначительное улучшение, у 4 пациентов (5,8%) – без улучшений.

С синдромом диабетической стопы (1–3 стадии) было 56 пациентов: по 23 человек в основной и контрольной группе, у 38 (67,8%) больных была нейроишемическая форма синдрома диабетической стопы, у 18 (32,1%) больных – невропатическая форма встречалась, у 8 пациентов (14,2%) имелись трофические нарушения на коже стопы, т.е. диабетические язвы. Пациенты были разделены на три подгруппы: I подгруппа – пациенты с первой стадией поражения стоп – 21 (37,5%) человек, II подгруппа – пациенты со второй стадией – 23 (41%) человек, III подгруппа – пациенты с третьей стадией – 12 (21,4%). Результаты лечения пациентов I подгруппы: у 15 (71,4%) пациентов наблюдалось уменьшение воспалительных явлений вокруг ран на протяжении 5–6 суток, к 7–10 суткам указанные явления исчезали практически полностью. Во II подгруппе – у 17 (73,9%) пациентов соответствующие явления исчезли через 17–21 суток. В III подгруппе – сроки очищения и заживления ран у 7 (58,3%) пациентов составили 57–63 суток.

Результаты лечения диабетической ретинопатии – у 84 (76,3%) пациентов достигнут положительный эффект, который сохраняется в течение 6–7 месяцев.

У 6 (42,8%) пациентов диабетической нефропатией регрессия и ремиссия лабораторных признаков нефропатии наступила через 2 года лечения (каждых 4 месяца).

При диабетической полиневропатией повторный курс лечения рекомендовали проводить через 3–6 месяцев, при диабетической ретинопатии через 4–6 месяцев.

Таким образом, применение озонотерапии (озоно-кислородной терапии) в сочетании с рефлексотерапией (акупунктурой), а также физиотерапией показало высокую эффективность комплексного лечения сахарного диабета 2 типа и его осложнений – диабетической полиневропатии, синдрома диабетической стопы, диабетической ретинопатии, а также диабетической нефропатии.

Список литературы

1. Бездетко П.А., Горбачев Е.В. Эпидемиология и частота сахарного диабета и диабетической ретинопатии // *Новости медицины и фармации*. 2007. № 8. С.19–25.
2. Винник Ю.С., Салмина А.Б., Теплякова О.В. и др. Комбинированная озонотерапия в лечении инфекционных заболеваний мягких тканей у больных сахарным диабетом // *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. 2015. № 2. С. 63–69
3. Довгий І.Л. Захворювання периферичної нервової системи: У 3-х т. / За ред. Н.К. Свиридової. Київ, 2016. Т. 1. 720 с.
4. Довгий И.Л., Мехедко В.В., Ханенко Н.В. Комплексное лечение диабетической полинейропатии методами озонотерапии, рефлексотерапии, физиотерапии / *Материалы V Украинско-Русской научно-практической конференции, IV Азиатско-Европейской научно-практической конференции «Озон в биологии и медицине»*. Одесса, 2010. 118–125 с.
5. Ковальчук П.Н., Ковальчук Л.С. Опыт применения различных методик озонотерапии в лечении осложнений сахарного диабета // *Проблемы здоровья и экологии*. 2011. № 2. С. 123–126.
6. Максимов В.А., Куликов А.Г., Киселева О.М., Щербина Т.М. Использование озона в комплексном лечении осложнений сахарного диабета // *Озон и методы эфферентной терапии в медицине*. Н.Новгород, 2000. С. 94.
7. Масленников О.В., Конторщикова К.Н. Озонотерапия. Внутренние болезни (пособие). – Н.Новгород: Изд-во НГМА, 1999. 55 с.
8. Масленников О.В., Конторщикова К.Н., Шахов Б.Е. Руководство по озонотерапии. Издание третье, переработанное и дополненное. Н.Новгород: Изд-во «Вектор-Тис», 2012. 332 с.
9. Молочкова Ю.В. Поражение кожи при сахарном диабете (лекция) // *РМЖ*. 2016. № 20. С. 1357–1358.
10. Павловская Е. Е. Озонотерапия сахарного диабета: Автореф. дис. ... к. мед. наук. Нижний Новгород, 1998. 24 с.
11. Панкратова М.А., Пирожков С.В., Балаболкин М.И., Литвицкий П.Ф. Окислительный стресс у больных сахарным диабетом типа 2 с различной длительностью заболевания и разной степенью компенсации углеводного обмена // *Сахарный диабет*. 2006. № 2. С. 12–15.
12. Паньків В.І. Цукровий діабет 2-го типу: як уникнути помилок і підвищити ефективність лікування // *Международный эндокринологический журнал*. 2013. № 4. С. 79–84.
13. Радаева М.В. Активность антиоксидантных ферментов в норме и при окислительном стрессе на примере метаболического синдрома: Дисс. ... канд. биолог. наук. Нижний Новгород, 2008. 124 с.
14. Рашид А. Применение акупунктуры при лечении больных сахарным диабетом: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Ташкент, 1999. 17 с.
15. Рефлексотерапія: Національний підручник / Н.К. Мурашко, О.Г. Морозова (та ін.). 1 том. К.: ТОВ «СІК груп Україна», 2013. 480 с.
16. Самосюк И.З. Лысенюк В.П. Акупунктура. М.: АСТ-Пресс книга, 2004. 528 с.

17. Сафват М.Х., Аль-Савалхи М.М., Масуф М.Н., Шахин А.А. Озон устраняет возрастные изменения, вызванные окислительным стрессом в печени и почках крыс: его эффекты до и после начала старения // Биохимия. 2014. № 5. С. 572–582.
18. Шнайдер Н.А., Петрова М.М., Киричкова Г.А. Диабетическая полиневропатия // Международный неврологический журнал. 2008. № 3. С. 115–119.
19. Bautista Rodríguez LM, Zambrano Plata GE. La calidad de vida percibida en pacientes diabéticos tipo 2 // Investig Enferm. Imagen Desarr. 2015;17(1):131–148.
20. Bocci V, Zanardi I, Huijberts MS, Travagli V. An integrated medical treatment for type-2 diabetes // Diabetes Metabolic Syndrome 2014;8(1):57–61.
21. Declaration de Madrid sobre la Ozonoterapia /www.aepromo.org/declaracion_madrid
22. Duarte H, Carretero J, Peña Y, Valcárcel J, Concepción D, Carbonell V. Advantages of the ozone therapy in neuro-infective diabetic foot patients // Revista Cubana de Angiología y Cirugía Vascular 2014;15(1):12–21.
23. Elshenawie H, Shalan W, Abdelaziz Aziza E. Effect of Ozone Olive Oil Ointment Dressing Technique on the Healing of Superficial and Deep Diabetic Foot Ulcers // Journal of American Science 2013;9(11):235–250.
24. Global Action Plan for the Prevention and Control of NCDs 2013–2020. www.who.int/mediacentre/factsheets
25. Hu H. A review of treatment of diabetes by acupuncture during the past forty years // J Tradit Chin Med. 1995;15:145–54.
26. International Diabetes Fideration IDF Atlas. – 5th ed. IDF, Brussels, 2011. 143 p.
27. Jiang H, Shi K, Li X, Zhou W, Cao Y. Clinical study on the wrist-ankle acupuncture treatment for 30 cases of diabetic peripheral neuritis // J Tradit Chin Med. 2006;26(1):8–12.
28. Liang F, Koya D. Acupuncture: is it effective for treatment of insulin resistance? // Diabetes Obes Metab. 2010;12(7):555–69.
29. Lupinacci N. Efectos de la acupuntura sobre la calidad de vida en diabéticos tipo II. 2015. 19 p. www.dspace.uces.edu.ar
30. Pandey A, Tripathi P, Pandey R, Srivatava R, Goswami S. Alternative therapies useful in the management of diabetes: A systematic review // J Pharm Bioallied Sci. 2011;3(4):504–512.
31. Rojas L. Análisis en 11 casos de variables clínicas medidas en pacientes con Diabetes Mellitus tipo II, durante la aplicación de Ozono sistémico mediante Autohemoterapia Mayor / Editado por AEPRMO (Asociación Española de Profesionales Médicos en Ozonoterapia) // Revista Española de Ozonoterapia. 2015. 1. P. 39–48.
32. Schwartz A, Kontorchnikova C, Malesnikov O, Martinez-Sanchez G, Re L. Guía para el uso médico del ozono: fundamentos terapéuticos e indicaciones. – Madrid: Asociación Española de Profesionales Médicos en Ozonoterapia, AEPRMO, 2011. 315 p.

33. USRDS annual data report: Epidemiology of kidney disease in the United States / United States Renal Data System. National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, Bethesda, MD. 2014. P. 188–210.
34. Zanardi I, Borrelli E, Valacchi G, Travagli V, Bocci V. Ozone: A Multifaceted Molecule with Unexpected Therapeutic Activity // *Curr Med Chem*. 2016;23(4):304–14.
35. [www.who.int/mediacentre/factsheets, diabetes](http://www.who.int/mediacentre/factsheets/diabetes)

Gautam Shah

LUMBAR DISC HERNIATION TREATMENT WITH INTRADISCAL OZONE THERAPY IN THE INDIAN SCENARIO

South Mumbai Wockhardt Hospital, Mumbai, Maharashtra, India

Smt.Motiben B.Dalvi Hospital, Mumbai, Maharashtra, India

Aastha Intensive Care Centre, Dhule, Maharashtra, India

Introduction – Intervention for lumbar disc herniation varies from conservative to minimally invasive surgery to open laminectomy and discectomy. Intradiscal ozone has been used in this study to analyze the effect of intradiscal ozone therapy for disc herniation.

Methods – Patients with contained disc on MRI and failed conservative treatment were included in the study. Patients with cauda equina syndrome, spinal tumours, infections and pregnant women were excluded.

A total of 23 patients were injected with intradiscal ozone. There were 16 males and 7 females , ages ranging from 22 years to 45 years. The study period was from July 2016 through Dec 2016.

Results – Patients were asked to rate the success of treatment on a numeric pain scale from 0 to 10. After 2 weeks, 19 patients reported satisfactory pain relief, 4 patients reported no change and underwent repeat procedure. After 6 weeks follow up, 2 patients had effective pain relief and 2 underwent surgery. There was no case of infection.

Conclusion – This study reports successful treatment of contained lumbar disc herniation using intradiscal ozone therapy. However a comparative and controlled trial will be essential to firmly establish the efficacy and effectiveness of this modality, along with long term follow up.