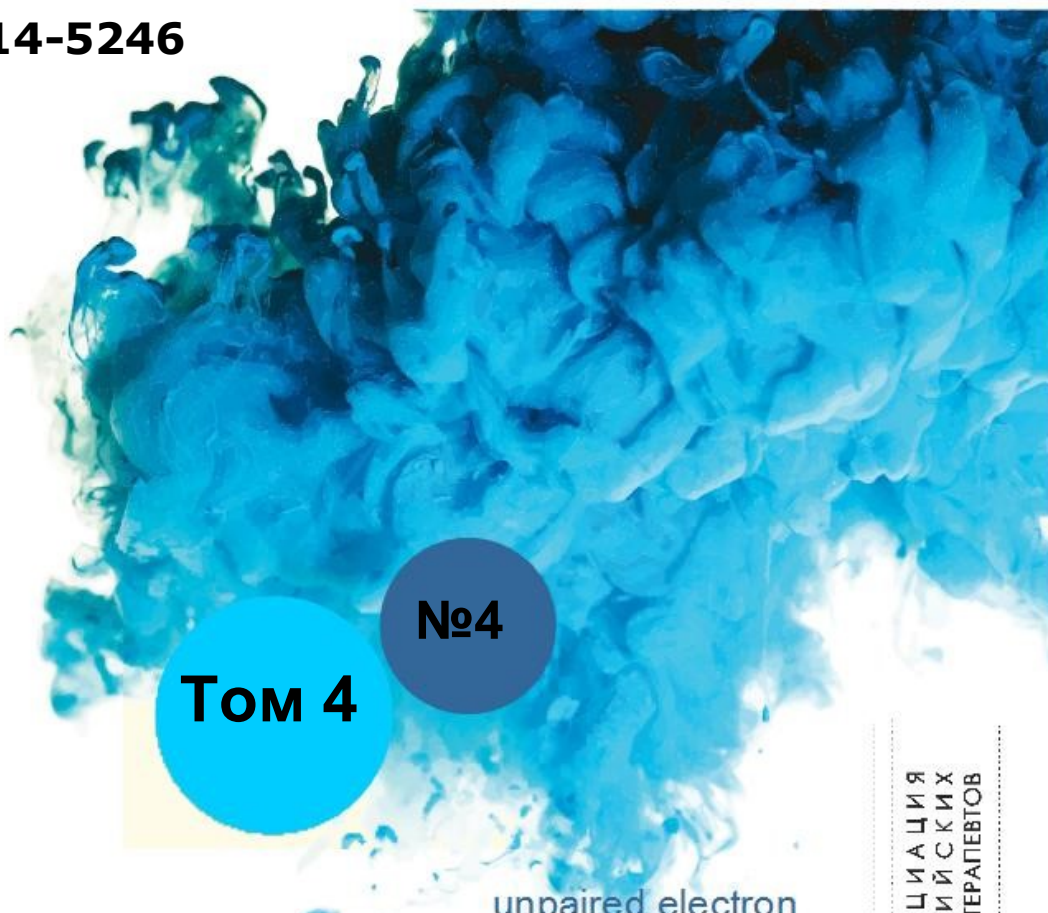
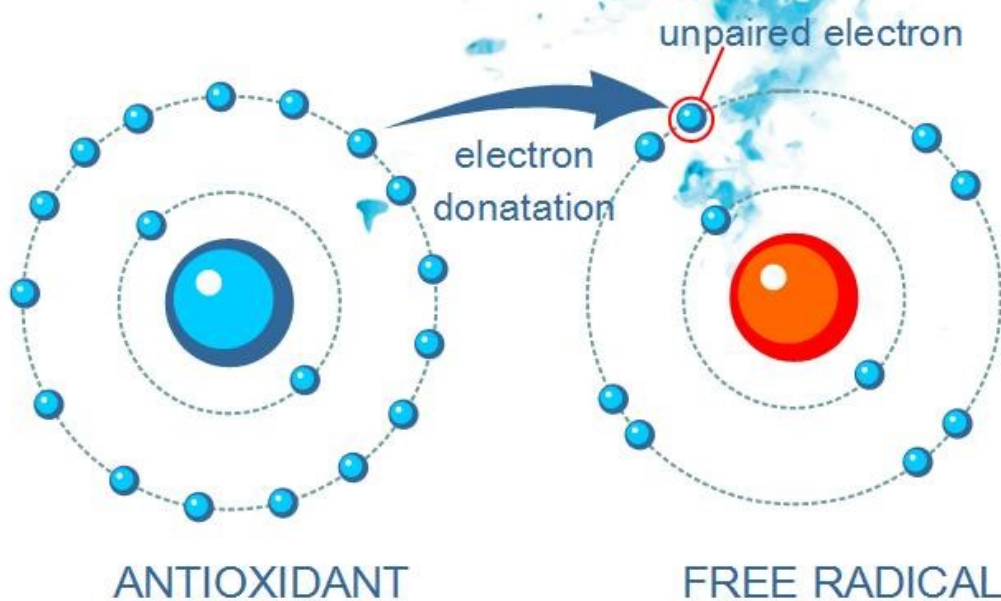


ISSN 2414-5246



Том 4

№4



АССОЦИАЦИЯ  
РОССИЙСКИХ  
ОЗОНОТЕРАПЕВТОВ



БИОРАДИКАЛЫ И  
АНТИОКСИДАНТЫ

2017



**АССОЦИАЦИЯ  
РОССИЙСКИХ  
ОЗОНОТЕРАПЕВТОВ**

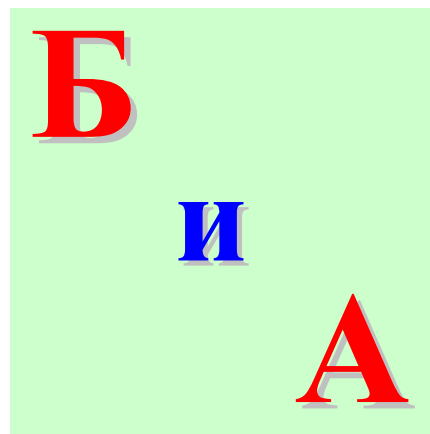
Гл. редактор – д.м.н., проф. С.П. Перетягин  
Зам. гл. редактора – д.б.н. А.К. Мартусевич  
Отв. секретарь – к.б.н. А.Г. Соловьева  
Зав. редакцией – А.А. Мартусевич

*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, №4  
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](mailto:cryst-mart@yandex.ru)  
[psp\\_aro@mail.ru](mailto:psp_aro@mail.ru)

**Internet:** [www.ozonotherapy.ru](http://www.ozonotherapy.ru)

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

## Содержание

## Content

### ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

### ORIGINAL ARTICLES

- Гречканев Г.О., Мотовилова Т.М., Никишов Н.Н., Ходосова Т.Г., Кlemente Апумайта Х.М., Журина И.Ю., Гагаева Ю.А., Вотинцева В.О., Хамидова А.Р.**  
Патогенетические возможности озono-бактериофаготерапии в лечении хронического эндометрита
- 6 Grechkanev G.O., Motovilova T.M., Nikishov N.N., Chodosova T.G., Klemente Apumaita Ch.M, Jurina I.Yu., Gagaeva Yu.A., Votintseva V.O., Chamidova A.R.**  
Pathogenetic possibilities of ozone-bacteriotherapy in the treatment of chronic endometritis
- Гречканева О.А., Биткина О.А., Перетягин С.П., Перетягин П.В., Габасов И.В., Ражева П.А.**  
Использование метода лазерной доплеровской флоуметрии для оценки эффективности наружных озонид-содержащих препаратов
- 16 Grechkaneva O.A., Bitkina O.A., Peretyagin S.P., Peretyagin P.V., Gabasov I.V., Rajeva P.A.**  
Using the method of laser Doppler flowmetry to assess the effectiveness of the outer ozonide-containing preparations
- Жукова Н.Э., Мартусевич А.К.**  
Оценка эффективности системной озонотерапии алкогольной абстиненции по параметрам вариабельности сердечного ритма
- 26 Jukova N.E., Martusevich A.K.**  
Evaluation of the effectiveness of systemic ozone therapy of alcohol withdrawal in the parameters of heart rate variability
- Мартусевич А.А., Дерюгина А.В.**  
Экспериментальная оценка действия оксида азота на электрокинетические свойства мембран эритроцитов
- 33 Martusevich A.A., Deryugina A.V.**  
Experimental evaluation of the effects of nitric oxide on the electrokinetic properties of erythrocyte membranes
- Мартусевич А.К., Краснова С.Ю., Ковалева Л.К., Козлова Л.А.**  
Влияние холодной гелиевой плазмы на кристаллогенные свойства крови
- 40 Martusevich A.K., Krasnova S.Yu., Kovaleva L.K., Kozlova L.A.**  
The effect of cold helium plasma on crystallogenic properties of blood

**Никишов Н.Н., Клементе Апумайта Х.М., Журина И.Ю., Гагаева Ю.А., Вотинцева В.О., Хамидова А.Р.**

Нарушения в балансе перекисного окисления липидов и антирадикальной системы защиты у больных с трубно-перитонеальным бесплодием

**47 Nikishov N.N., Klemente Apumaita Ch.M., Jurina I.Yu, Gagaeva Yu.A., Vorotintseva V.O., Chamidova A.R.**

Disturbances in the balance of lipid peroxidation and antiradical protection system in patients with tubal-peritoneal infertility

**Перетягин П.В., Гречканёва О.А., Перетягин С.П.**

Особенности микроциркуляции при сочетанном применении низкочастотной электроимпульсной миостимуляции и электрофоретического введения активных форм кислорода из крема с озонидами в эксперименте

**51 Peretyagin P.V., Grechkaneva O.A., Peretyagin S.P.**

Features of the microcirculation with concomitant use of low-frequency electromyostimulation and electrophoretic introduction of active forms of oxygen from the cream ozonide in the experiment

**Перетягин С.П., Гордцов А.С., Соловьёва А.Г., Гречканёва О.А., Жильцов С.А., Соколов С.А., Перетягин П.В., Диденко Н.В.**

Влияние низкочастотного электроимпульсного воздействия на физико-химические показатели и биологическую активность крема, содержащего активные формы кислорода

**57 Peretyagin S.P., Gordetsov A.S., Soloveva A.G., Grechkaneva O.A., Jiltsov S.A., Sokolov S.A., Peretyagin P.V., Didenko N.V.**

Influence of low-frequency electric pulse effects on physico-chemical characteristics and biological activity of the cream containing the active oxygen forms

**Перетягин С.П., Соловьёва А.Г., Соколов С.А., Жильцов С.А., Гречканёва О.А., Перетягин П.В., Диденко Н.В.**

Изменения параметров кислородного гомеостаза крови после сочетанного электроимпульсного чрескожного воздействия с электрофоретическим введением активных форм кислорода в эксперименте

**65 Peretyagin S.P, Soloveva A.G., Sokolov S.A., Jiltsov S.A., Grechkaneva O.A., Peretyagin P.V., Didenko N.V.**

Change the settings of the oxygen homeostasis of blood after transcutaneous electric pulse combined effects from electrophoretic introduction of active forms of oxygen in experiment

**Соловьева А.Г., Перетягин С.П.,  
Мартусевич А.К., Перетягин П.В.,  
Сазонова И.Е., Беляева К.Л.**

Воздействие озона на  
свободнорадикальные процессы в  
крови при регенерации кожных  
покровов в эксперименте

***Правила оформления статей***

**77 Soloveva A.G., Peretyagin S.P.,  
Martusevich A.K., Peretyagin P.V.,  
Sazonova I.E., Belyaeva K.L.**

The effects of ozone on free radical  
processes of blood when skin  
regeneration in experiment

**82 *Guidelines for authors***

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ОЗОНО-  
БАКТЕРИОФАГОТЕРАПИИ В ЛЕЧЕНИИ ХРОНИЧЕСКОГО  
ЭНДОМЕТРИТА

Гречканев Г.О.<sup>1</sup>, Мотовилова Т.М.<sup>1</sup>, Никишов Н.Н.<sup>2</sup>, Ходосова Т.Г.<sup>3</sup>,  
Клементе Апумайта Х.М.<sup>4</sup>, Журина И.Ю.<sup>1</sup>, Гагаева Ю.А.<sup>1</sup>,  
Вотинцева В.О.<sup>1</sup>, Хамидова А.Р.<sup>1</sup>

1 - ФГБОУ ВО НижГМА МЗ РФ, г. Нижний Новгород

2 - Медицинский институт БФУ им. И. Канта

3 - ГАУ КО «Региональный перинатальный центр», г.Калининград

4 - ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» МЗ РФ, г.Москва

**Abstract**

The article describes the effectiveness of ozone-bacteriotherapy in the correction of the most important parts of the pathogenesis of chronic endometritis - lipid peroxidation and antioxidant defense system. Received convincing data on the positive impact of ozone-bacteriotherapy on the parameters of homeostasis of patients.

**Key words:** chronic endometritis, lipid peroxidation, antioxidant protection system

В статье описывается эффективность озono-бактериофаготерапии в комплексной терапии хронического эндометрита в отношении коррекции важнейших звеньев патогенеза - перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы защиты. Получены убедительные данные о положительном воздействии озono-бактериофаготерапии на данные параметры гомеостаза больных.

**Ключевые слова:** хронический эндометрит, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система защиты

Хронический эндометрит является одной из наиболее обсуждаемых проблем современной гинекологии репродуктивного возраста. [1, 2], Данная патология имеет сложный патогенез, связанный с длительной персистенцией в полости матки инфекционных агентов, морфологическими и функциональными нарушениями эндометрия [3, 4]. Хроническое воспаление слизистой оболочки полости матки может стать причиной репродуктивных расстройств, включая привычное невынашивание беременности, бесплодие, неудачные попытки методов вспомогательной репродукции, в основе чего лежат нарушение рецепторной чувствительности эндометрия и дефект имплантации [2, 4].

Одним из общепризнанных компонентов патогенеза острых и хронических

воспалительных процессов, в т.ч. в гинекологии, является оксидативный стресс [5, 6], при этом очевидна необходимость санации полости матки при ее микробной контаминации и персистирующем воспалительном процессе в условиях формирующейся резистентности микрофлоры к антимикробным химиопрепаратам [7 -10].

С учетом известных позитивных терапевтических эффектов медицинского озона и бактериофагов а также полученных результатов эксперимента *in vitro* [11, 12], в ходе которого нами было установлено отсутствие негативного воздействия озона в терапевтических концентрациях на активность фагов, было решено оценить эффективность их комбинированного применения в клинических условиях.

**Целью исследования** явилось: установить характер воздействия озонобактериофаготерапии на перекисное окисление липидов (ПОЛ) и антиоксидантную систему защиты (АОСЗ) у больных хроническим эндометритом.

### **Материалы и методы**

В нашем исследовании приняли участие 80 пациенток в возрасте от 22 до 42 лет с гистологически подтвержденным хроническим эндометритом. Нарушения репродуктивной функции, а именно бесплодие, выкидыши, неразвивающиеся беременности и неудачные попытки ЭКО и ПЭ были отмечены в анамнезе у всех пациенток. 90% больных имели перенесенные ранее инфекционно-воспалительные процессы различной локализации (кольпит, бактериальный вагиноз, пиелонефрит, цистит, колит, тонзиллит, синусит). У 85% пациенток периодически отмечались патологические выделения из половых путей.

Всем пациенткам было проведено микробиологическое исследование материала, полученного из влагалища, цервикального канала и полости матки, женщины со специфическими возбудителями генитальных инфекций из исследования были исключены. Бактериоскопическая картина и результаты фемофлор-скрина вагинального мазка соответствовали дисбиотическим изменениям микроценоза влагалища в 80% случаев. Изучение микрофлоры полости матки показало, что у пациенток с позитивными результатами посевов были обнаружены микробные ассоциации из 2-3-х микроорганизмов, представленных: *Staphylococcus spp.*, *Enterococcus*, *E.coli*, *Streptococcus spp.*, *Klebsiella*, *Actinomyces*, *Peptostreptococcus*, *Clostridium*. В ходе определения чувствительности флоры к антимикробным химиопрепаратам микроорганизмы были либо устойчивы, либо демонстрировали низкую чувствительность к основным группам антибиотиков в 36% случаев.

Больные были случайным образом разделены на 2 равные по количеству группы, которые были сопоставимы по возрасту, семейному положению, социальному статусу, образованию, гинекологической и соматической патологии.

В I группе (40 пациенток) проводилась озонотерапия в виде внутриматочных орошений озонированным физиологическим раствором в количестве 400 мл (концентрация озона в озон-кислородной смеси - 5000 мкг/л). В конце процедуры озонотерапии в полость матки вводили препарат комплексного пибактериофага в объеме 4-7 мл через день №5. После внутриматочной

процедуры тампон, также смоченный препаратом, вводился в задний свод влагалища на 3-4 часа с целью предупреждения вытекания раствора и реализации антимикробного действия на слизистую оболочку влагалища. Данный биопрепарат активен в отношении восьми возможных, потенциально патогенных микроорганизмов, вызывающих воспалительные процессы различных локализаций. II группа (40 пациенток) получала традиционное лечение в виде антибиотиков широкого спектра действия, комплексов витаминов, микроэлементов и физиотерапии.

Оценка влияния различных вариантов лечения на систему ПОЛ-АОСЗ проводилась нами методом скрининга (биохемиллюминиметрия) по показателям  $I_{\max}$  в  $mv/c$  (максимальная интенсивность свечения, соответствующая потенциальной способности сыворотки крови к свободно-радикальному окислению липидов),  $S$  в  $mv/c$  (светосумма за 30 секунд, отражающая содержание радикалов, соответствующих обрыву цепи свободнорадикального окисления) и  $tg^2 \alpha$  (показатель, характеризующий скорость спада процессов ПОЛ), которые обратно пропорциональны емкости АОСЗ. Исследовались также уровни продуктов ПОЛ – диеновых конъюгатов (ДК), триеновых конъюгатов (ТК), и оснований Шиффа. Оценка АОСЗ проводилась на основе анализа активности антиоксидантных ферментов каталазы (Кат) и супероксиддисмутазы (СОД). Исследование проводили до и через 1 месяц после окончания лечения.

### Результаты и их обсуждение

Нами было установлено, что изучаемые показатели биохемиллюминиметрии во всех группах до лечения превышали нормативы у большинства обследованных (табл.1).

Таблица 1. Влияние различных методов лечения на показатели биохемиллюминиметрии

Группы больных		$I_{\max}$ , $mv/cек$	$S$ , $mv/cек$	$tg^2 \alpha$
I группа (n=40)	До лечения	2,52±0,13	15,32±0,08	0,62±0,03
	После лечения	1,25±0,04 *	10,12±0,04 *	0,34 ±0,01 *
II группа (n=40)	До лечения	2,76±0,07	14,87±0,08	0,58±0,02
	После лечения	2,52 ±0,09*	14,65±0,07 <sup>x</sup>	0,69±0,03 <sup>x</sup>

\*- достоверность различий ( $p < 0,05$ ) показателя по отношению к исходному  
<sup>x</sup> - достоверность различий ( $p < 0,05$ ) показателя II группы по отношению к показателю I группы

T

ак, показатель  $I_{\max}$ , отражающий активность ПОЛ, составил 2,52±0,13  $mv/cек$  – в I группе и 2,76±0,07 во II группе ( $p > 0,05$ ). Он был выше нормы



(нормативные значения -  $1,33 \pm 0,08$  mv/сек) у 37 (92,5%) и 39 (97,5%) женщин, соответственно.

Показатель S находился в I группе на уровне  $15,32 \pm 0,08$  mv/сек, во II  $14,87 \pm 0,08$  mv/сек ( $p > 0,05$ ) и был повышен (нормативные значения -  $13,2 \pm 0,7$  mv/сек), соответственно, у 35 (87,5%) и 37 (92,5%) больных.

Показатель tg 2 альфа, в I группе составлял в среднем  $0,62 \pm 0,03$ , во II группе  $0,58 \pm 0,02$ , что не имеет достоверных отличий ( $p > 0,05$ ). Данный параметр был, соответственно, выше нормы (нормативные значения -  $0,32 \pm 0,05$ ) у 34 (85%) и 36 (90%) пациенток.

Исследование исходного содержания молекулярных продуктов ПОЛ показало, что ДК в крови пациенток в I группе находились на уровне  $0,39 \pm 0,01$  ед.опт.пл./мг ОЛ, во II -  $0,41 \pm 0,03$  ед.опт.пл./мг ОЛ ( $p > 0,05$ ). Повышенным уровень ДК (нормативные значения  $0,22 \pm 0,02$  ед.опт.пл./мг общ. липидов) был, соответственно, у 36 (90%) и 37 (92,5%) больных.

Исходный уровень ТК составлял, соответственно,  $0,049 \pm 0,003$  ед.опт.пл./мг ОЛ и  $0,052 \pm 0,004$  ед.опт.пл./мг ОЛ, что достоверно не отличается ( $p > 0,05$ ). Он был выше нормы (нормативные значения -  $0,027 \pm 0,002$  ед.опт.пл./мг общ. липидов) у 32 (80%) женщин I группы и 33 (82,5%) II группы.

Содержание ОШ было следующим: в I группе  $20,47 \pm 0,12$  усл.ед./мг ОЛ, во II -  $22,32 \pm 0,11$  усл.ед./мг ОЛ, что не имеет достоверных отличий ( $p > 0,05$ ). Превышение нормы (нормативные значения -  $15,3 \pm 0,12$  отн. ед./мг общ. липидов) имело место у 38 (95%) пациенток I группы и 37 (92,5%) II группы (таблица 2).

Как оказалось, исходно активность Кат и СОД не имела отличий в обеих группах больных (табл.3). Активность Кат (нормативные значения -  $508,0 \pm 18,6$ ) в I группе составила  $412,0 \pm 5,7$  Ед/г Нв в мин, во II -  $403,4 \pm 6,3$  Ед/г Нв в мин ( $p > 0,05$ ) и была ниже нормы, соответственно, у 97,5% и 90% женщин. СОД (нормативные значения -  $586,0 \pm 22,4$  Ед/г Нв в мин) находилась в I группе на уровне  $392,2 \pm 5,7$  Ед/г Нв в мин, во II -  $386,5 \pm 9,1$  Ед/г Нв в мин, что не имеет достоверных отличий ( $p > 0,05$ ). Уменьшение активности данного фермента было установлено, соответственно, у 38 (95%) и 40 (87,5%) женщин.

В совокупности эти данные свидетельствуют об ослаблении антиокислительного потенциала организма и усилении липопероксидации на фоне даже латентно протекающего воспалительного процесса, что может служить почвой для клинической манифестации, спровоцированной какими-либо внешними факторами [1, 5, 6].

Проводимое лечение показало различную эффективность в отношении влияния на показатели ПОЛ-АОСЗ. Так, Iмах в I группе уменьшился до  $1,25 \pm 0,04$  mv/сек ( $p < 0,05$ ), т.е. на 50,1%.

Нормальные значения Iмах после лечения имели место у 35 (87,5%) женщин. Во II группе изменения показателя были недостоверными, в связи с чем показатель оставался повышенным у 31 (77,5%) пациенток (рис.1).

Уровень S в I группе при контрольном исследовании составил  $10,12 \pm 0,04$  mv/сек, что ниже исходного на 33,9% ( $p < 0,05$ ), во II группе данный показатель не изменился.

Показатель  $\text{tg } 2 \alpha$  в I группе после лечения составил  $0,34 \pm 0,01$ , что меньше исходного на 45% ( $p < 0,05$ ). У пациенток II группы значимые изменения отсутствовали.

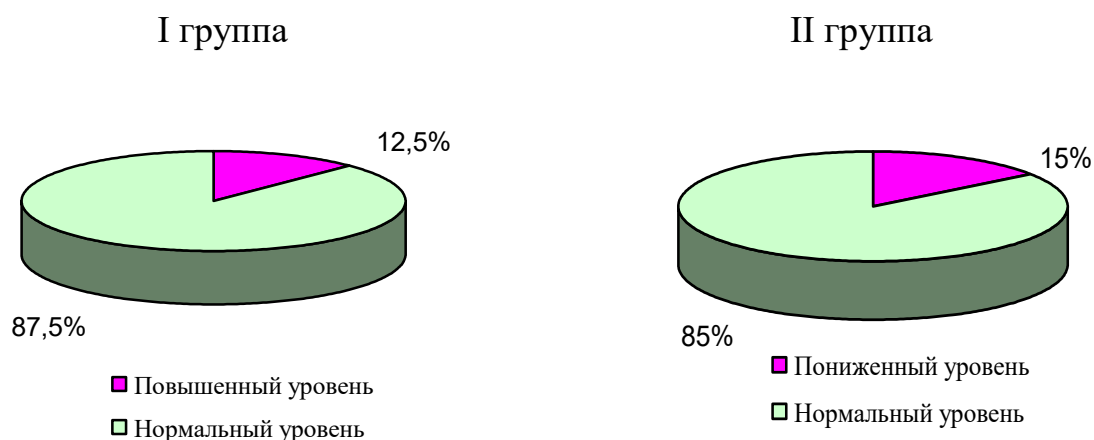


Рис.1 Количество пациенток с нормальным и повышенным уровнем Imax после окончания терапии

Динамика изменений молекулярных продуктов ПОЛ также зависела от характера проводимого лечения (табл. 2).

Таблица 2 Влияние различных методов лечения на молекулярные продукты ПОЛ

Группы больных		ДК, ед.опт.пл./мг г ОЛ	ТК, ед.опт.пл./мг ОЛ	ОШ, усл.ед./мг ОЛ
I группа (n=40)	До лечения	$0,39 \pm 0,01$	$0,049 \pm 0,003$	$20,47 \pm 0,12$
	После лечения	$0,25 \pm 0,02^*$	$0,033 \pm 0,002^*$	$11,16 \pm 0,08^*$
II группа (n=40)	До лечения	$0,41 \pm 0,03$	$0,052 \pm 0,004$	$22,32 \pm 0,11$
	После лечения	$0,39 \pm 0,05^x$	$0,051 \pm 0,005^x$	$20,78 \pm 0,14^x$

\*- достоверность различий ( $p < 0,05$ ) показателя по отношению к исходному  
 x - достоверность различий ( $p < 0,05$ ) показателя II группы по отношению к показателю I группы

Так, уровень ДК в I группе уменьшился до  $0,25 \pm 0,02$  ед.опт.пл./мг ОЛ ( $p < 0,05$ ), т.е. на 35,9%. Во II группе изменений показателя не было.

Однонаправленной, была динамика изменений уровня ТК в I группе он уменьшился до  $0,033 \pm 0,002$  ед.опт.пл./мг ОЛ, т.е. на 32,7% ( $p < 0,05$ ), во II группе он не изменился.

ОШ в I группе уменьшились на 45% до  $11,16 \pm 0,08$  усл.ед./мг ОЛ (рис.2), что привело к нормализации показателя у 31 (77,5%) больной.

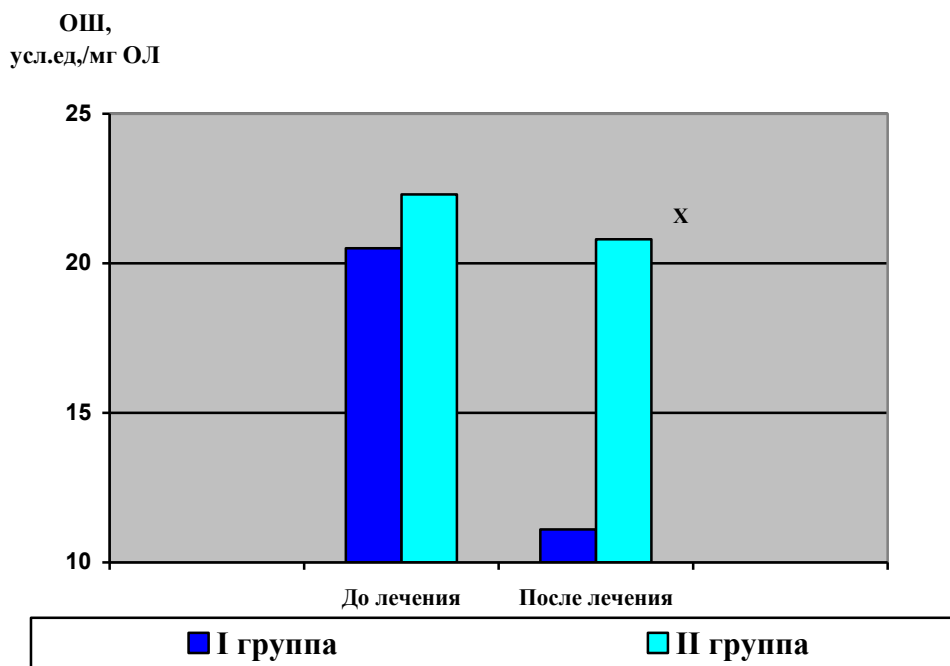


Рис.2. Влияние различных методов лечения на уровень ОШ в крови больных (x - достоверность различий ( $p < 0,05$ ) показателя II группы по отношению к показателю I группы)

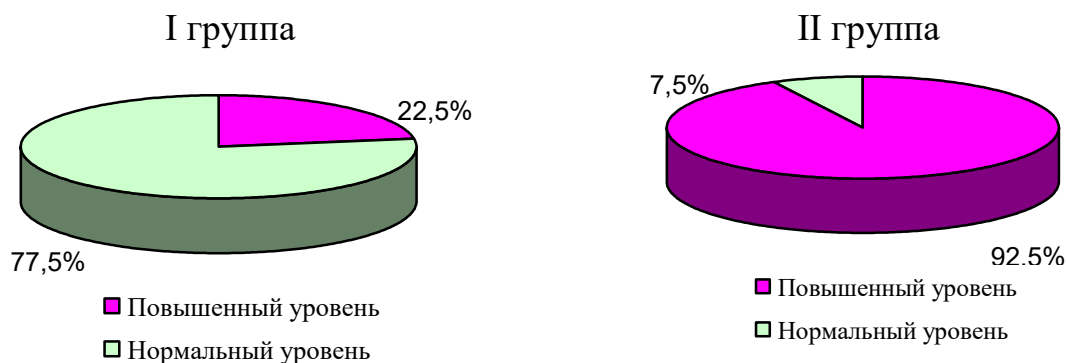


Рис. 3. Количество пациенток с нормальным и повышенным уровнем ОШ после окончания терапии

Во II группе больных за счет отсутствия достоверного снижения уровень ОШ оказался выше, чем в I ( $p < 0,05$ ) и превышал норму (по данным анализа индивидуальных показателей) у 37 (92,5%) пациенток, как и до лечения (рис. 3).

Для раскрытия механизмов нормализации процессов липопероксидации является целесообразным исследование активности антиоксидантных ферментов, в частности каталазы и супероксиддисмутазы, поскольку они являются важнейшими компонентами АОСЗ и лимитируют разветвляющиеся ПОЛ.

Таблица 3. Влияние различных методов лечения на показатели активности антиоксидантных ферментов

Группы больных		Каталаза, Ед/г Нв в мин	СОД, Ед/г Нв в мин.
I группа (n=40)	До лечения	412,0±5,7	392,2±5,7
	После лечения	524,5±9,6 *	517,44±12,0*
II группа (n=40)	До лечения	403,4±6,3	386,5±9,1
	После лечения	414,5±3,1 <sup>x</sup>	397,2±8,2 <sup>x</sup>

\*- достоверность различий ( $p < 0,05$ ) показателя по отношению к исходному  
<sup>x</sup> - достоверность различий ( $p < 0,05$ ) показателя II группы по отношению к показателю I группы

Как показало динамическое наблюдение (рис. 4, 5) за уровнями активности антиоксидантных ферментов достоверные изменения происходили только в I группе больных и проявлялись в их очевидном росте.

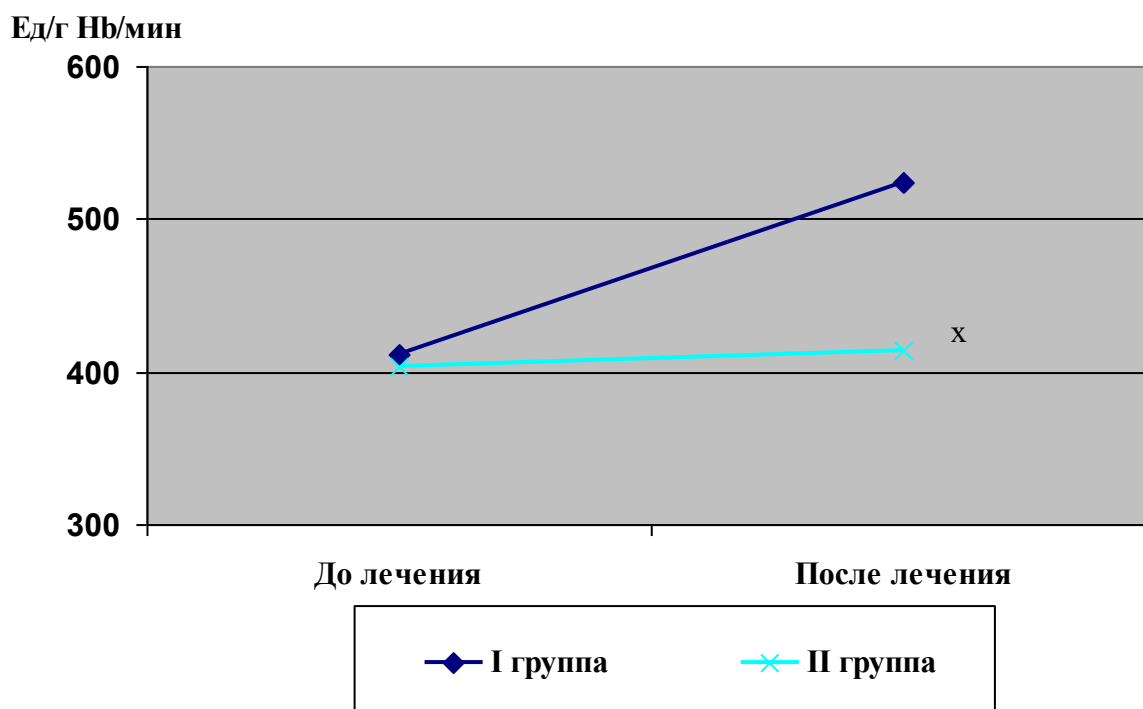


Рис. 4. Влияние различных методов лечения на уровень Кат в крови больных (x - достоверность различий ( $p < 0,05$ ) показателя II группы по отношению к показателю I группы)

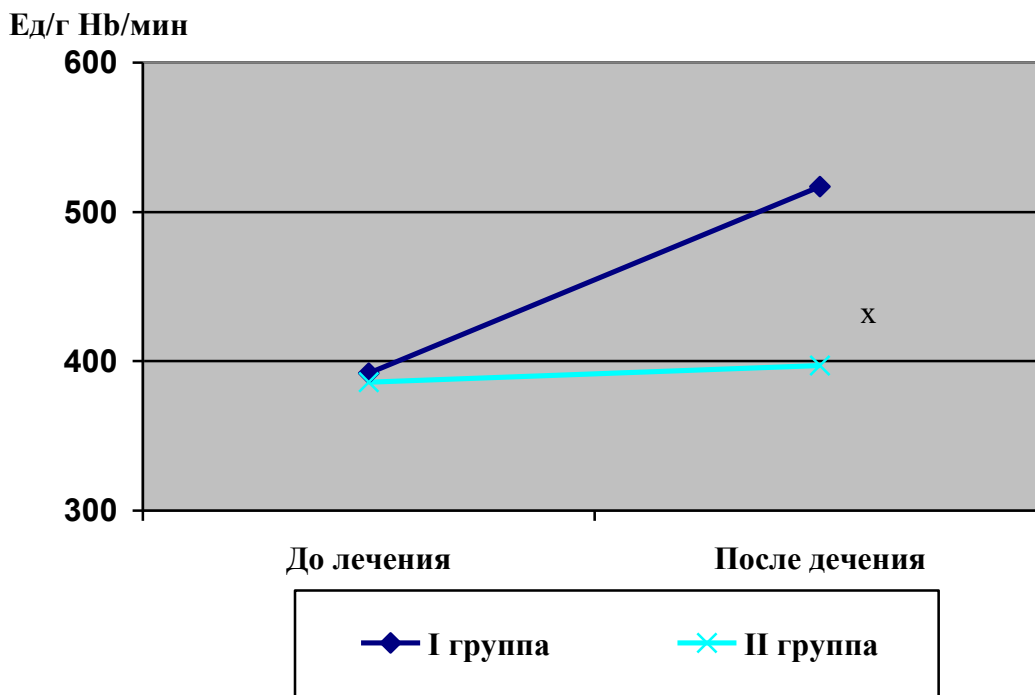


Рис. 5. Влияние различных методов лечения на уровень СОД в крови больных (x - достоверность различий ( $p < 0,05$ ) показателя II группы по отношению к показателю I группы)

В I группе активность Кат повысилась на 27% до  $524,5 \pm 9,6$  Ед/г Нв в мин ( $p < 0,05$ ) а СОД - на 32% до  $517,44 \pm 12,0$  Ед/г Нв в мин ( $p < 0,05$ ). Во II группе достоверных изменений показателей не произошло, вследствие чего они были достоверно ниже соответствующих величин I группы ( $p < 0,05$  во всех случаях).

Благодаря озono-бактериофаготерапии количество больных с недостаточностью Кат и СОД оказалось в I группе минимальным. За счет роста активности Кат в I группе нормализация показателя была достигнута у 35 (87,5%) а СОД - у 34 (85%) женщин (рис. 6, 7).

Во II группе низкий уровень Кат оставался у 36 (90%), СОД 35 (87,5%) пациенток.

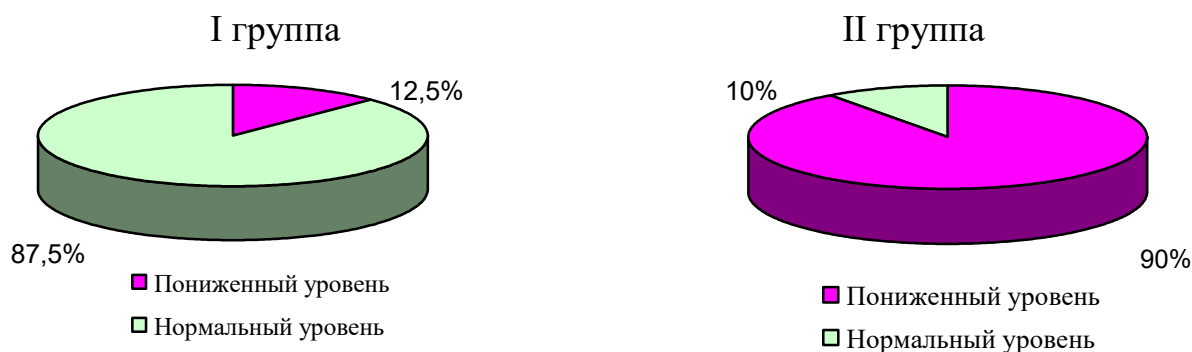


Рис. 6. Количество пациенток с нормальным и пониженным уровнем Кат после окончания терапии

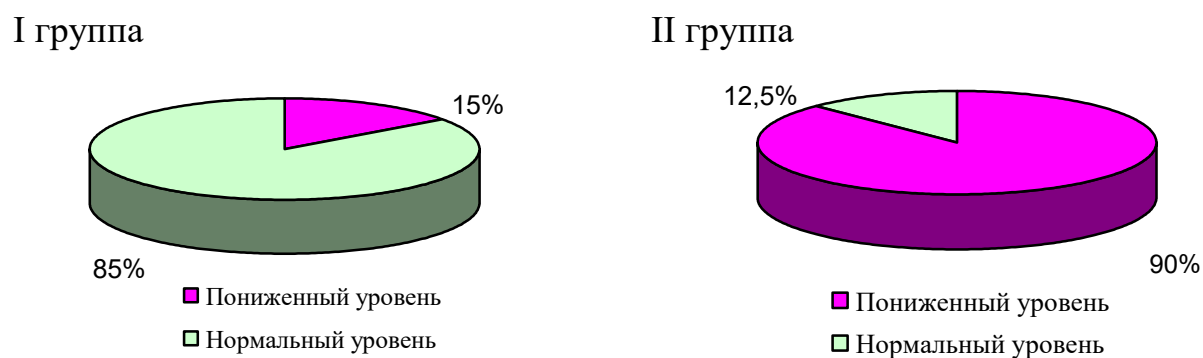


Рис. 7. Количество пациенток с нормальным и пониженным уровнем СОД после окончания терапии

Общепризнано, что универсальным механизмом развития всех патологических процессов, в том числе и воспалительных заболеваний гениталий, является оксидативный стресс [5, 6, 13, 14]. Данное явление имеет место в ответ на повреждающее действие инфекционного агента и усугубляется массивной многокомпонентной фармакотерапией, срывом систем детоксикации. Неконтролируемое накопление свободных радикалов ведет к дезинтеграции как внутриклеточных, так и мембранных и околомембранных процессов, что вызывает нарушение тканевого дыхания формирование неадекватных адаптационных реакций в тканях, не является исключением и эндометрий [15]. Нами было подтверждено, что параметры ПОЛ-АОСЗ у больных хроническим эндометритом находятся вне диапазона нормативных значений, что свидетельствует о наличии перекисного стресса, требующего коррекции. Наблюдения в динамике показали, что изучаемые показатели находятся в зависимости от используемого лечения. При условии озono-бактериофаготерапии достигается выраженный эффект стимуляции активности антиоксидантных ферментов Кат и СОД, что имеет следствием подавление синтеза свободных радикалов. Об этом свидетельствуют как данные мониторинга биохемилюминесцентных показателей, так и молекулярных продуктов липопероксидации. Данный эффект очевидно обусловлен, системным влиянием озона, поскольку фаги подобными свойствами не обладают.

Традиционное лечение без использования средств коррекции липопероксидации сопровождалось сохранением стабильно низких уровней АОСЗ и высоких величин ПОЛ.

Таким образом, одним из важных патогенетических механизмов озono-бактериофаготерапии является усиление антирадикальной защиты организма.

#### Список литературы

1. Зароченцева Н.В., Аршакян А.К., Меньшикова Н.С., Титченко Ю.П. Хронический эндометрит: этиология, клиника, диагностика, лечение // Российский Вестник акушера-гинеколога. 2013. №5. С. 21-27.
2. Тапильская Н.И., Карпеев С.А., Кузнецова И.В. Хронический эндометрит — субклиническое воспалительное заболевание органов малого таза // Гинекология. 2014. №1. С.104-109.

3. Bartlett E.C., Levison W.B., Munday P.E. Pelvic inflammatory disease // BMJ. 2013. 346 p.
4. Краснопольский В.И., Логутова Л.С., Зароченцева Н.В. Дуб Н.В., Титченко Ю.П., Овчинникова В.В., Меньшикова Н.С., Аршакян А.К., Ушакова С.В. Прегравидарная подготовка женщин с невынашиванием беременности и хроническим эндометритом. Учебное пособие, СПб. 2014. 31 с.
5. Столярова У.В., Рогожина И.Е., Хворостухина Н.Ф. с соавт. Особенности иммунных и оксидантных нарушений у больных с воспалительными заболеваниями органов малого таза // Мать и дитя: Мат. V Регионального научного форума. - Геленджик, 2011. С.269-270.
6. Виноградова О.П., Кузнецова М.Н. Компоненты антиоксидантной защиты при воспалительных заболеваниях органов малого таза в гинекологии // Мать и дитя: Матер. VII Регионального научного форума. - Геленджик, 2014. С.192-193.
7. Гомболевская Н.А., Марченко Л.А., Муравьева В.В. Состав микрофлоры эндометрия у женщин с хроническим эндометритом // Мат. XXV междунар. конгресса с курсом эндоскопии «Новые технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний» 5-8 июня 2012 г. С.80.
8. Sharma H., Tal R., Clark N.A., Segars J.H. Microbiota and pelvic inflammatory disease // Semin. Reprod. Med. 2014. Vol. 32(1). P.43-49.
9. Wiesenfeld H.C., Hillier S.L., Meyn L.A., Amortegui A.J., Sweet R.L. Subclinical pelvic inflammatory disease and infertility //Obstet. Gynecol. 2012. №120. P.37-43.
10. Sharma H., Tal R., Clark N.A., Segars J.H. Microbiota and pelvic inflammatory disease // Semin. Reprod. Med. 2014. Vol. 32(1). P.43-49.
11. Гречканев Г.О. Технологии озонотерапии в акушерстве и гинекологии. Н.Новгород. Изд-во НижГМА, 2016. 384 с.
12. Гречканев Г.О., Мотовилова Т.М., Горшунова Л.Г., Пономарева И.В., Никишов Н.Н., Котова Т.В., Бойченко Т.А., Грабан И.В., Пшеницына С.М. Сочетанное местное применение медицинского озона и бактериофагов в лечении женщин с воспалительными заболеваниями гениталий (экспериментальное обоснование) // Российский вестник акушера-гинеколога. 2016. №1. С.17-20.
13. Некрасов Э.В. Методы анализа перекисного окисления липидов в медико-биологических исследованиях // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. –2012. №46. С. 99–101.
14. Гречканев Г.О., Мотовилова Т.М., Гаревская Ю.А., Чурикова М.С., Бойченко Т.А., Никишов Н.Н. Антиоксидантная терапия – важнейший компонент патогенетического лечения воспалительных заболеваний // Врач. 2015. №3. С.54.
15. Городецкая О.С., Чандра-Д’Мелло Р., Гречканев Г.О. Показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы защиты у пациенток с хроническим неспецифическим эндометритом // Вятский медицинский вестник. 2010. № 4. С. 27–28.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА ЛАЗЕРНОЙ ДОПЛЕРОВСКОЙ ФЛОУМЕТРИИ ДЛЯ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ НАРУЖНЫХ ОЗОНИД-СОДЕРЖАЩИХ ПРЕПАРАТОВ

О.А. Гречканева, О.А. Биткина, С.П. Перетягин, П.В. Перетягин, И.В. Габасов, П.А. Ражева

*ФГБОУ ВО «Нижегородская государственная медицинская академия» МЗ РФ, ФГУ « Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр» МЗ РФ, Нижний Новгород*

*Ассоциация российских озонотерапевтов, Нижний Новгород*

*Клиника «Александрия», Нижний Новгород*

### **Abstract**

The aim of this study was estimation of the dynamics of skin blood flow on cutaneous application of cosmetic gels containing different amount of active oxygen in the form of ozonides.

The study was conducted in 18 healthy people aged 35 to 65 years. The first group consisted of 6 people, which on the face was applied a glycolic peel (glycolic acid in gel form of 52.5%, pH of 2.0) with an exposure of 5 minutes and subsequent neutralization of the acid neutralizing alkaline solution. The second group consisted of 6 people, which on the face was applied a glycolic peel (glycolic acid in gel form of 52.5%, pH of 2.0) with an exposure of 5 minutes and subsequent neutralization of the acid neutralizing alkaline solution, and then on the skin of the forehead locally for 10 minutes was applied a cream "Ozodermis" 10% in the form of appliques round shape with a diameter of 5 cm and a thickness of 2 mm. The third group of 6 people, which on the skin of the forehead locally for 10 minutes was applied a cream "Ozodermis" 10% in the form of appliques round shape with a diameter of 5 cm and a thickness of 2 mm, without previous peeling.

The study found the cumulative stimulating effect of the cream " Ozodermis" 10% on the microcirculation of the skin, making promising its use in healthy people to improve the condition of the skin and people suffering from various diseases in pathogenesis of which plays an important role in the disruption of the microcirculation of the skin.

**Key words:** ozodermis, microcirculation, cosmetology

Проводилось изучение динамики кожного кровотока на накожное применение косметических гелей, содержащих различное количество активного кислорода в виде озонидов.

Исследование проводилось у 18 практически здоровых людей в возрасте от 35 до 65 лет. Первую группу составили 6 человек, которым на кожу лица наносился гликолевый пилинг (гликолевая кислота в виде геля 52,5% рН 2,0) с



экспозицией 5 минут и последующей нейтрализацией кислоты нейтрализующим щелочным раствором. Вторую группу составили 6 человек, которым на кожу лица наносился гликолевый пилинг (гликолевая кислота в виде геля 52,5% рН 2,0) с экспозицией 5 минут и последующей нейтрализацией кислоты нейтрализующим щелочным раствором, а затем на кожу центра лба локально на 10 минут наносился крем «Озодермис» 10% в виде аппликации круглой формы диаметром 5 см и толщиной 2 мм. Третья группа- 6 человек, которым на кожу центра лба локально на 10 минут наносился крем «Озодермис» 10% в виде аппликации круглой формы диаметром 5 см и толщиной 2 мм, без предыдущего проведения пилинга.

Проведённое исследование выявило накопительный стимулирующий эффект действия крема «Озодермис» 10% на микроциркуляцию кожи, что делает перспективным его использование как у здоровых людей с целью улучшения состояния кожи, так и у людей страдающих различными заболеваниями в патогенезе которых заметную роль играет нарушение микроциркуляции кожных покровов.

**Ключевые слова:** озодермис, микроциркуляция, косметология

Лазерная доплеровская флоуметрия (ЛДФ) – это неинвазивный метод исследования микроциркуляторного русла, который заключается в зондировании ткани лазером и последующим анализом отражённого излучения.

Теоретической основой метода является доплеровский эффект. Он заключается в том, что частота излучения, воспринимаемого наблюдателем, меняется в зависимости от движения источника излучения или же самого наблюдателя. Применимо к данному методу, это означает, что лазерное излучение, отражённое от поверхности эритроцитов, будет изменять свою частоту пропорционально скорости движения клеток, таким образом позволяя нам судить о качестве микроциркуляции в конкретном регионе. При этом, в отличие от ультразвуковых методов диагностики, основанных на данном эффекте, применение лазера даёт возможность получить сигнал наибольшей амплитуды от отдельных эритроцитов из более тонкого слоя ткани толщиной около 1 мм. [Fagrell B., 1994]. Глубина зондирования напрямую зависит от длины волны: чем короче волна, тем тоньше слой. В зависимости от целей исследования, может использоваться излучение различной длины волны: от зелёного до ближнего инфракрасного. [Andersen R.R., Parrish J.A., 1981].

Отражённый от ткани сигнал несёт в себе постоянную и переменную составляющие, образованные излучением, отражённым соответственно от неподвижных и подвижных структур. Сигнал, образованный такими неподвижными структурами, как, например, кость или же участок кожи, лишённый микрососудов, доплеровского сдвига в себе не несёт, а потому его частота равняется частоте исходящего сигнала. В свою очередь при исследовании участка микроциркуляторного русла, мы обнаружим сдвиг частоты, который будет равен  $\Delta f = 2nV/\lambda$  (где  $\Delta f$  – доплеровский сдвиг частоты,  $n$  – показатель преломления излучения в ткани,  $V$  – скорость эритроцитов,  $\lambda$  – длина волны зондирующего излучения).

В свою очередь, совокупность сигналов от всех эритроцитов исследуемой области, движущихся с разными скоростями и по различным сосудам, будут формировать некоторый усреднённый показатель. Мы можем судить о качестве перфузии в регионе, обработав полученные данные по формуле  $ПМ=K*N_{эр}*V_{ср}$  (где ПМ – показатель микроциркуляции, K – коэффициент пропорциональности (K=1),  $N_{эр}$  – количество эритроцитов,  $V_{ср}$  – средняя скорость эритроцитов). Показатель микроциркуляции, или ПМ, характеризует изменение перфузии ткани в исследуемой области и прямо пропорционален скорости и количеству эритроцитов в ней. При этом ПМ нельзя представить в виде каких-либо абсолютных единиц, например,  $мл/сек/мм^3$ , поскольку прибор не в силах учесть броуновское движение клеток крови - подобные показатели просто были бы недостоверными [Stefanovska A., Bracic M., 1999]. Поэтому для оценки качества микроциркуляции используются особые, относительные «перфузионные единицы», которые характеризуют изменение потока крови в единицу времени в зондируемом объёме [Borgos J., 1994].

Современный и наиболее эффективный метод оценки состояния микроциркуляторного русла – лазерная доплеровская флоуметрия - широко применяется в разных сферах теоретической и практической медицины. ЛДФ используется для диагностики состояния исследуемого объекта в норме и при патологии, а также для оценки эффективности проводимой терапии [Давыдова А.В. и соавт, 2012]. Тепловидение и ЛДФ применены для изучения инфракрасных (ИК) эффектов, опосредованных сосудистыми реакциями, у добровольцев при периодической односторонней артериовенозной окклюзии одного из пальцев кисти

Известны случаи применения метода ЛДФ в дерматологической практике. Описано применение ЛДФ при изучении систем регуляции микроциркуляторного русла и механизмов старения. В результате исследования параметров периферического кровотока у здоровых лиц разных возрастных групп были выявлены упрощение и увеличение степени упорядоченности микроциркуляторной системы. [Танканага А.В. и соавт, 2006]

Македонова Ю.А. и соавт. при помощи лазерной доплеровской флоуметрии исследовали особенности микроциркуляции у здоровых лиц и у больных красным плоским лишаем. По данным ЛДФ, ухудшение микроциркуляции наблюдается как в зоне поражения, так и в клинически неизменной слизистой оболочке симметричных областей. Таким образом, ЛДФ в сочетании с клиническими данными дает возможность объективно оценить состояние пораженной ткани. [7]

ЛДФ позволяет достоверно оценить перспективность различных методов лечения больных атрофическими поражениями кожи, а именно: склероатрофическим лихеном, спаянными рубцами кожи. ЛДФ-граммы отражают положительную динамику числа активно функционирующих капилляров в эпидермисе больных после проведенной восстановительной терапии. [Псавок Ф.А., 2009]

При исследовании микроциркуляции кожи волосистой части головы у больных диффузными алопециями методом ЛДФ было выявлено повышение нейрогенного и эндотелиально-зависимого компонентов тонуса сосудов. После

лечения кровотока в капиллярах улучшился, показатели ЛДФ нормализовались. [Ткаченко С.Б. и соавт, 2013]

Данные ЛДФ подтверждают терапевтическую эффективность сочетанного метода лечения больных очаговой алопецией. При измерении показателей микроциркуляции у пациентов с очаговой алопецией выявили повышенный тонус артериол и застойные явления в веноулярном отделе. На фоне комплексной терапии отмечена положительная динамика основных показателей микроциркуляции в очагах выпадения волос [Монахов С.А. и соавт., 2012].

При атопическом дерматите выявлены нарушения микроциркуляторного кровотока по спастическому застойному типу. В результате лечения наблюдается замедление воспалительных изменений кожи детей, что подкрепляется тенденцией к повышению показателей микроциркуляции, оцененных при помощи ЛДФ. [Козулин Е.Е., Козулин Е.А., 2015]. Приведенные данные соотносятся с ранее проведенными исследованиями по наличию у больных тяжелыми формами атопического дерматита гипоксического состояния, характеризующимся низким напряжением кислорода в очагах поражения и непораженной коже [Куликова О.Д., 2001], что делает перспективным применение методов, направленных на коррекцию нарушений микроциркуляторных нарушений в комплексной терапии атопического дерматита, в частности метода адаптации к периодической барокамерной биопсии [Банников В.А., 1998]; озонотерапии [Иванова О.А., 1998]; инфузий раствора реамберина [Куликова О.Д., 2001].

Особенности микроциркуляторных нарушений у больных псориазом по данным ЛДФ описаны Адырхаевой Д.А. и соавт. При псориазе отмечается снижение активности нейрогенного компонента кровотока и, наряду с этим, усиление миогенного и эндотелиального компонентов. Таким образом, результаты ЛДФ позволяют подобрать подходящие методы лечения с учетом механизмов развития заболевания [16]. Таким образом, накоплен определенный опыт ЛДФ-оценки нарушений микроциркуляции при ряде дерматозов.

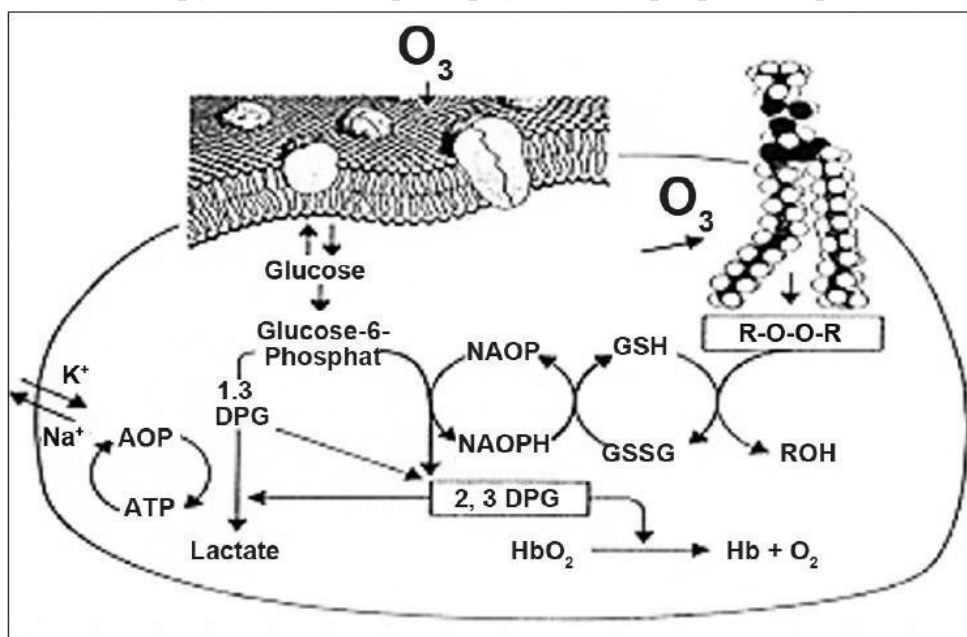


Рис. 1. «Эритроцитарный» механизм  $O_3$  Рокитанского

Особую ценность ЛДФ имеет для оценки терапевтической эффективности методик озонотерапии, как системных, так и местных, поскольку в основе лечебного применения медицинской озono-кислородной смеси лежит усиление деформабельности эритроцитов и улучшение отдачи кислорода в ткани, тѣк называемый механизм О. Рокитанского [Rokitansky O., 1982].

К текущему моменту сформирована методология применения системных методов озонотерапии для лечения ряда дерматозов [Биткина О.А., 2010; Байтяков В.В., 2012; Кошелева И.В., 2013], есть опыт использования ЛДФ для оценки эффективности озонотерапии в дерматологии. Куликов А.Г. изучил влияние комбинированной методики озонотерапии на состояние кровотока микроциркуляторного русла у больных экземой. В ходе исследования наблюдалось уменьшение клинических проявлений заболевания и выраженная положительная динамика показателей микроциркуляции. Кроме того, в коррекции расстройств микроциркуляции при экземе более значимую роль сыграла общая (системная) озонотерапия.

В настоящий период активно используются возможности озонид-содержащих наружных препаратов в дерматокосметологии для коррекции возрастных изменений, улучшения процессов регенерации, уменьшения продолжительности восстановительного периода после оперативных вмешательств, химических пилингов [Биткина О.А., Соколов С.А, 2013]. Проведены исследования в динамике применения наружных озонид-содержащих препаратов с помощью лазерной доплеровской флоуметрии микроциркуляции крови. Были изучены местные и системные реакции организма лабораторных животных при наружном применении косметических гелей, содержащих озониды [Биткина О.А. и соав., 2016]. По последним данным отмечается положительное влияние озонидов на процессы микроциркуляции кожи, что позволяет корректировать возрастные изменения, улучшать процессы регенерации, уменьшать продолжительность восстановительного периода после оперативных вмешательств, химических пилингов. Основой лечебного действия озонидсодержащих наружных препаратов в отношении заболеваний кожи или ее травматического повреждения являются многочисленные лечебные эффекты медицинской озono-кислородной смеси: бактерицидный, фунгицидный, вирусоцидный, антиоксидантный, очищение раневых и язвенных поверхностей, стимуляция регенеративных процессов и ускорение эпителизации, нормализация иммунного ответа, активация периферической микроциркуляции. Озонидсодержащие наружные препараты становятся одним из актуальных направлений терапии дерматозов и косметических недостатков кожи, необходимо патогенетическое обоснование их применения. За последние несколько лет у большинства стран производителей появились широкие линии озонидсодержащей косметики, которые представляются на различных озонотерапевтических конгрессах: «Ozonrelive» (Италия), «Ozonoaqua», «Ozolife» и «Ozono D'Or» (Испания), «Balmozon OzonizedOil» и «Ozon Yagi» (Турция), «Oleum3» и Nutraozone Ozoneactive» (США); «Trioximed» (Мексика). Российское производство озонидсодержащих наружных препаратов представлено продукцией серии «OzoneBeauty» (Медозонс, Нижний Новгород): Ozodermis

10% (30ml) крем с озонидами, Ozodermis 5% (50ml) крем с озонидами, Ozodermis 3% (80ml) крем с озонидами; линейкой Отри, содержащей маски для волос, кремы и озонированные оливковые масла с высокими значениями пероксидных чисел 6000 и 12 000 Ед (Медозонс, Нижний Новгород). Более 20 лет существует линейка наружных препаратов фирмы Медозон, Москва ( Aliving Ozone).

**Цель работы:** изучение динамики кожного кровотока на накожное применение косметических гелей, содержащих различное количество активного кислорода в виде озонидов.

#### **Материалы и методы исследования**

Исследование проводилось у 18 человек в возрасте от 35 до 65 лет при комнатной температуре 22 – 23 градусов в положении испытуемого лёжа после 20 минутного отдыха. Испытуемые включали в себя практически здоровых лиц, которые обратились к косметологу с целью улучшения состояния кожи лица. I группу составили 6 человек, которым на кожу лица, после предварительного её очищения и обезжиривания, наносился гликолевый пилинг (гликолевая кислота в виде геля 52,5% рН 2,0) с экспозицией 5 минут и последующей нейтрализацией кислоты нейтрализующим щелочным раствором (содиум бикарбонат 2,5%). II группу составили 6 человек, которым на кожу лица, после предварительного её очищения и обезжиривания, наносился гликолевый пилинг (гликолевая кислота в виде геля 52,5% рН 2,0) с экспозицией 5 минут и последующей нейтрализацией кислоты нейтрализующим щелочным раствором (содиум бикарбонат 2,5%), а затем на кожу центра лба локально на 10 минут наносился крем «Озодермис» 10% в виде аппликации круглой формы диаметром 5 см и толщиной 2 мм. III группа- 6 человек, которым на кожу центра лба, после предварительного её очищения и обезжиривания, локально на 10 минут наносился крем «Озодермис» 10% в виде аппликации круглой формы диаметром 5 см и толщиной 2 мм, без предыдущего проведения пилинга.

#### **Результаты и обсуждение**

Записи ЛДФ (лазерной доплеровской флоуметрии) [Крупаткин А.И., 2005] проводили на коже центральной части лба (рис.2). Измерения осуществляли у испытуемых всех групп в покое, сразу после проведения пилинга в I группе, сразу после окончания экспозиции крема во II, III группах, а также во всех группах через 20, 40, 60 минут соответственно. Всем испытуемым через месяц после исследования была проведена однократная запись ЛДФ в той же точке лба. Испытуемые III группы в течение этого месяца использовали крем «озодермис» 10% в качестве домашнего ухода за кожей лица утром и вечером ежедневно. Испытуемые I и II групп использовали в это время свои привычные средства домашнего ухода (не содержащие озониды кремы различных брендов для постпилингового периода). Каждое измерение проводилось в течение 400 секунд с помощью зонда d 3мм в красном канале лазерного излучения (длина волны 0,63 мкм, толщина зондирования около 0,8 мм), а также в инфракрасном канале (длина волны 1,15 мкм, толщина зондирования около 1,6 мм с захватом в т. ч. глубже расположенных микрососудов). Получены ЛДФ - граммы кожного кровотока, анализ которых позволил оценить состояние микроциркуляции кожных покровов в заданной точке измерения в условных единицах, а также

величину компонентов контроля микроциркуляции – активных факторов контроля (эндотелиального, миогенного и нейрогенного механизмов регуляции просвета сосудов) и пассивных факторов контроля (дыхательного и сердечного механизмов). Статистическая обработка проводилась с помощью программы Microsoft XL. Реакция кожи на непосредственное воздействие у всех групп испытуемых достоверных отличий не имела.

### Усл.ед.

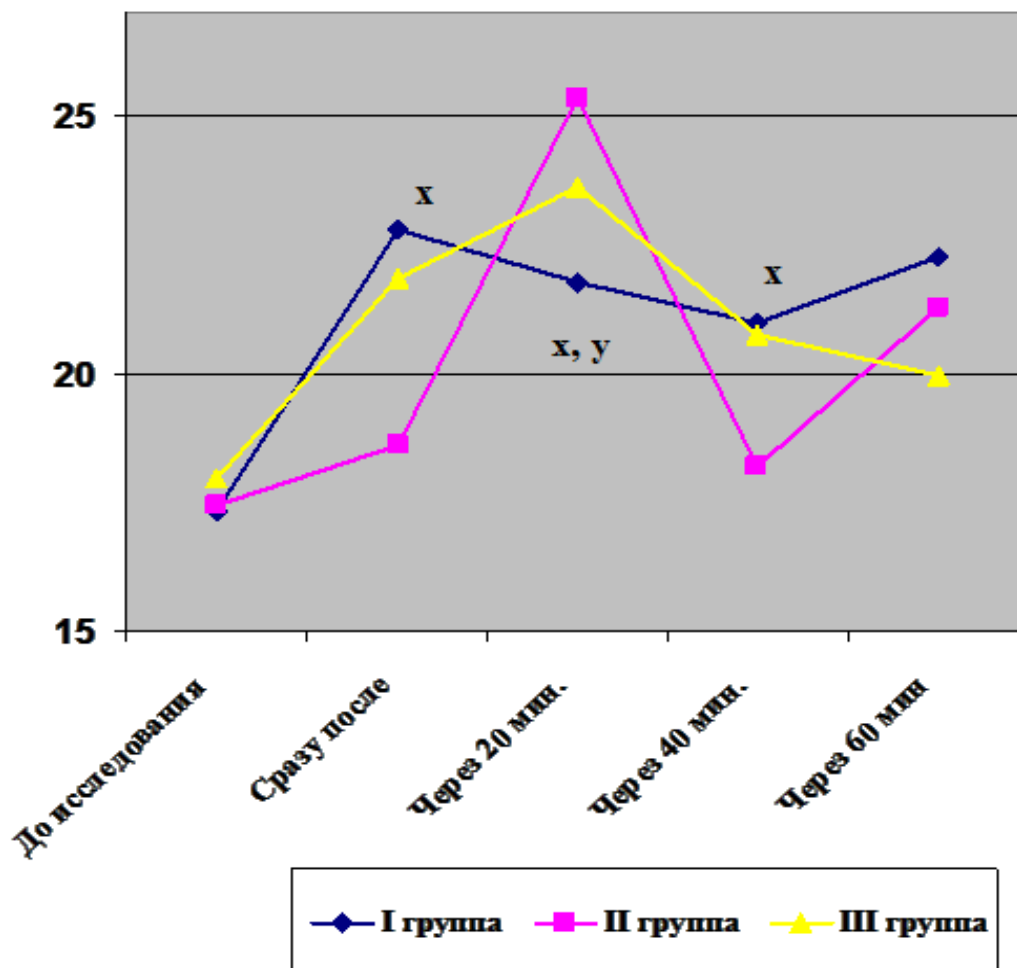


Рис. 2. Влияние различных методов воздействия на общий уровень микроциркуляции кожи (x - достоверность различий ( $p < 0,05$ ) показателя III группы по отношению к показателю I группы, y - достоверность различий ( $p < 0,05$ ) показателя III группы по отношению к показателю II группы)

Однако, при повторном исследовании через 30 дней у всех испытуемых III группы отмечалось достоверное увеличение микроциркуляции на 25% преимущественно за счёт дыхательного и миогенного компонентов (миогенный компонент увеличился по сравнению с исходным на 53%, сосудистый - на 24%). Субъективно все испытуемые III группы отметили улучшение внешнего вида кожи, улучшение цвета и рельефа кожи лица (рис.3).

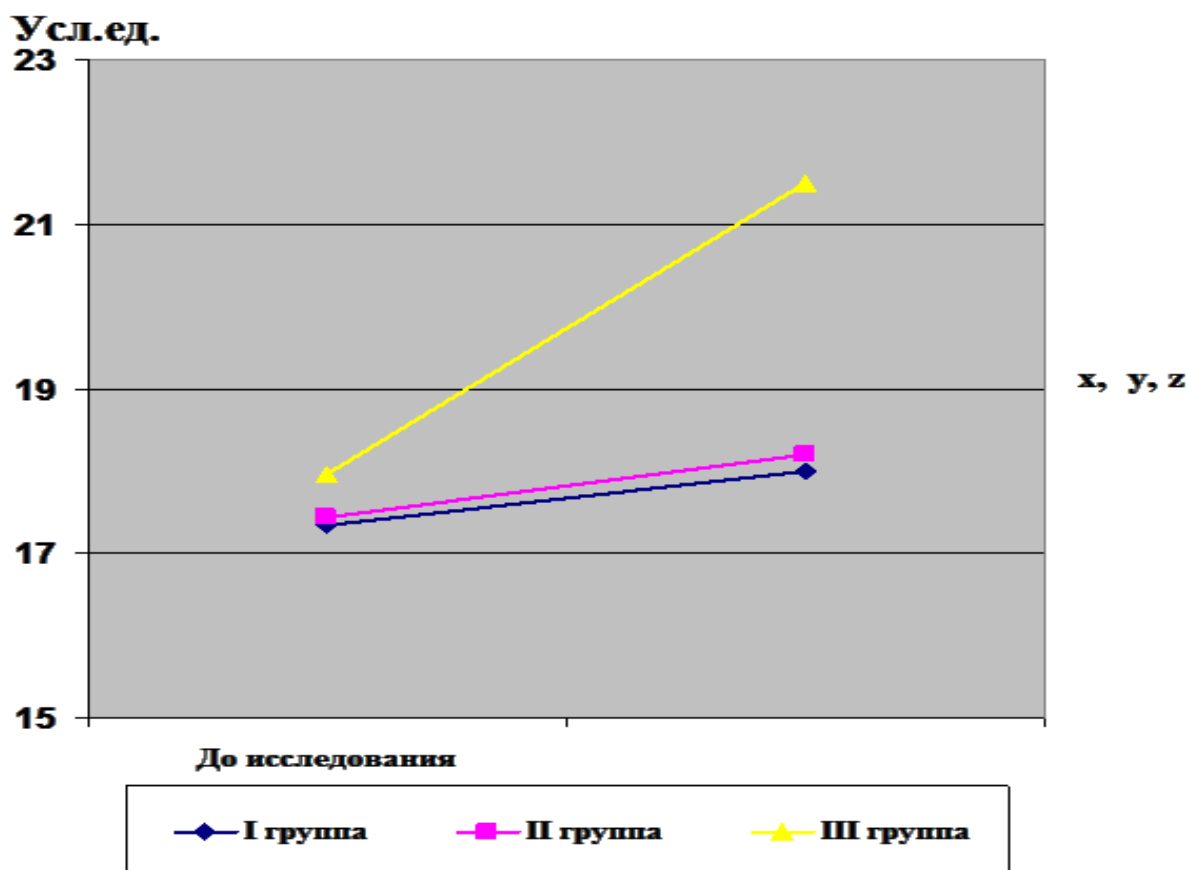


Рис.3. Влияние различных методов воздействия на общий уровень микроциркуляции кожи при пролонгированном наблюдении (x - достоверность различий ( $p < 0,05$ ) показателя III группы по отношению к показателю I группы, y - достоверность различий ( $p < 0,05$ ) показателя III группы по отношению к показателю II группы)

### Выводы

Проведённое исследование выявило накопительный стимулирующий эффект действия крема «Озодермис» 10% на микроциркуляцию кожи, что делает перспективным его использование как у здоровых людей с целью улучшения состояния кожи, так и у людей страдающих различными заболеваниями в патогенезе которых заметную роль играет нарушение микроциркуляции кожных покровов.

### Список литературы

1. Fagrell B. Problems using laser Doppler on the skin in clinical practice, Laser Doppler. – London, Los Angeles, Nicosia, Med-Orion Publishing Company, 1994.
2. Andersen R.R., Parrish J.A. The optics of human skin // J. Invest. Dermatol. – 1981. – v.77 – p.13.
3. Stefanovska A., Bracic M. Physics of the human cardiovascular system // Contemporary Physics, 1999. – v.40, n.1. pp. 31-35
4. Borgos J. Principles of instrumentation: Calibration and technical issues. Laser Doppler. – London, Los Angeles. Nicosia, Med-Orion Publishing Company, 1994, pp. 3 – 16.

5. Давыдова А.В., Моррисон А.В., Утц С.Р., Меглинский И.В., Лыгачев В.В. Оценка состояния микроциркуляторного русла кожи лица методом лазерной доплеровской флоуметрии // Саратовский научно-медицинский журнал. 2012. Т.8 № 2. С. 615-621.
6. Воловик М.Г., Киселев Д.В., Полевая С.А., Александров Н.М., Перетягин П.В., Хомякова М.И., Ковальчук А.В. Влияние многократной локальной ишемии на температурный режим и микроциркуляцию кожи кисти у человека // Физиология человека, 2015, Т. 41, № 4, с. 100-109
7. Танканаг А.В., Тихонова И.В., Чемерис Н.К. Нелинейный анализ изменений динамики периферического кровотока кожи человека в процессе старения // Вестник новых медицинских технологий. 2006. Т.ХIII. №3. С. 96-98.
8. Македонова Ю.А., Фирсова И.В., Поройский С.В., Михальченко Д.В. Анализ показателей капиллярного кровотока у больных красным плоским лишаем слизистой полости рта // Вестник ВолгГМУ. 2016; 1(57): 65-67.
9. Псавок Ф.А. Роль псаммотерапии и морских процедур в восстановительном лечении больных атрофическими поражениями кожи // Вестник новых медицинских технологий. 2009. Т.ХVI №4. С. 115-117.
10. Ткаченко С.Б., Олисова О.Ю., Пащенко Е.Ю., Бучаева З.К. Терапия диффузной алопеции с использованием внутрикожного введения витаминов группы В и комплекса Цистин В6 // Российский журнал кожных и венерических болезней. 2013. №3. С. 58-61.
11. Монахов С.А., Ляшенко А.Ю., Корчажкина Н.Б., Круглова Л.С., Шаблий Р.А., Перминова М.А., Олисова О.Ю. Сочетанный фармако-физиотерапевтический метод в лечении очаговой алопеции // Российский журнал кожных и венерических болезней. 2012. №3. С. 45-46.
12. Козулин Е.Е., Козулин Е.А. Фитоминеральная корнеотерапия в реабилитации детей с атопическим дерматитом // Дальневосточный медицинский журнал. 2015. С. 58-60.
13. Куликова О.Д. Роль гипоксии в развитии нарушений антиоксидантной защита при атопическом дерматите у детей и их коррекция реамберином. Автореферат дисс. к. м. н., Москва, 2001, 16 с.
14. Иванова О.А. Применение озона у больных нейродермитом с учетом состояния иммунного статуса, про- и антиоксидантной систем. Автореферат дисс. к. м. н., Москва, 1998, 16 с.
15. Банников В.К. Лечение и реабилитация больных экземой и атопическим дерматитом методом адаптации к периодической барокамерной гипоксии. Автореферат дисс. д.м.н., Москва, 1998, 34 с.
16. Адырхаева Д.А., Натарова Э.В., Рюмкина Н.А. Особенности показателей лазерной доплеровской флоуметрии при псориазе. Вестник новых медицинских технологий. 2007. Т.ХIV. №1. С.120-122.
17. Rokitansky O. Klinik und biochemic der ozon therapy // Hospitalis.-1982.-152.-P.643-711.
18. Биткина О.А. Научное обоснование применения медицинской озоноросной смеси для лечения розовых и вульгарных угрей на основе динамики показателей перекисного окисления липидов, антиоксидантной системы и



окислительной модификации протеинов. Автореферат дисс. д. м. н., Москва, 2010, 48 с.

19. Байтяков В.В. Патогенетическое обоснование методов экстракорпоральной и внутрисосудистой гемокоррекции в терапии больных вульгарным псориазом. Автореферат дисс. докт. мед. наук, Екатеринбург, 2012 - 38 с.

20. Кошелева И.В. Кислородно-озоновая терапия хронических иммунозависимых дерматозов. Автореферат дисс. д. м. н., Москва, 2013. 49 с.

21. Куликов А.Г. Озонотерапия: микродинамические аспекты // Физиотерапия, бальнеология и реабилитация. 2012. №3. С. 3-7.

22. Биткина О.А., Перетягин С.П., Соловьева А.Г., Гречканева О.А., Мартусевич А.К., Бугрова М.Л., Перетягин П.В., Проданец Н.Н. Изучение местных и системных реакций организма на накожное применение косметических гелей, содержащих озониды // Биорадикалы и антиоксиданты. 2016, Том 2, № 1, С. 32-39.

23. Биткина О.А., Соколов С.А. Перспективы применения озонид-содержащих наружных препаратов в дерматологии // Медицинский альманах. 2013. - №3. – С. 163-165.

24. Лазерная доплеровская флоуметрия. Микроциркуляции крови» Руководство для врачей / Под редакцией А.И. Крупаткина, В.В. Сидорова.- Москва: ОАО «Издательство «Медицина», 2005, 489 с.

## ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ СИСТЕМНОЙ ОЗОНОТЕРАПИИ АЛКОГОЛЬНОЙ АБСТИНЕНЦИИ ПО ПАРАМЕТРАМ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ СЕРДЕЧНОГО РИТМА

<sup>1</sup>Жукова Н.Э., <sup>2</sup>Мартусевич А.К.

<sup>1</sup>Клиника «Госпитальер», Саратов, Россия

<sup>2</sup>ФГБУ «ПФМИЦ» Минздрава России, Нижний Новгород, Россия

### Abstract

The aim of this study was estimation of systemic ozone therapy on dynamics of heart rate variability at patients with alcohol abstinence. We performed open prospective study of functional state of cardiovascular system in these patients. Patients of first (control) group (n=45) got a standard scheme of abstinence treatment, and in second group (n=45) we additionally used course of intravenous injections of ozonized saline (4000 mcg/l; 10 procedures). We estimated the dynamics of parameters of heart rate variability. It was stated that the use of systemic ozone therapy caused a positive effects on cardiovascular system, including normalization of regulatory actions on myocardium.

**Key words:** systemic ozone therapy, alcohol abstinence, heart rate variability

Целью исследования явилось изучение влияния системной озонотерапии на динамику вариабельности сердечного ритма у пациентов с алкогольным абстинентным синдромом. Проведено открытое исследование функционального состояния сердечно-сосудистой системы пациентов с абстинентным синдромом. Представители первой группы (n=45) получали стандартный вариант схемы лечения алкогольной абстиненции, коррекция состояния пациентов второй группы (n=45), кроме стандартных мероприятий, включала курс системной озонотерапии (внутривенное введение озонированного физиологического раствора с концентрацией озона 4000 мкг/л, 10 ежедневных процедур). Изучали динамику параметров вариабельности сердечного ритма пациентов. Установлено, что применение системной озонотерапии оказывает благоприятное действие на функционирование сердечно-сосудистой системы, проявляющееся в ускорении процессов нормализации регуляторных влияний на миокард, а также способствуя профилактике развития кардиоваскулярных осложнений, развивающихся в период алкогольной абстиненции.

**Ключевые слова:** системная озонотерапия, алкогольная абстиненция, вариабельность сердечного ритма

Известно, алкогольная абстиненция – симптомокомплекс соматических, неврологических и психопатологических расстройств у больного алкоголизмом, возникающих в результате внезапного прекращения запоя или снижения доз алкоголя [3, 5, 6, 9]. В этот период организм пациента в наибольшей степени подвержен риску развития дисфункций основных органов и систем, в частности,

сердечно-сосудистой, выделительной и печени [1-3, 5, 6, 8], что детерминирует необходимость своевременной и полноценной коррекции данного патологического состояния [5, 6, 9]. Несмотря на существующие разработки в области совершенствования тактики ведения пациентов с алкогольным абстинентным синдромом [5, 6, 8], многие аспекты данной проблемы остаются недостаточно изученными. Особенно это касается коррекции возникающих при данном состоянии нарушений системной и локальной гемодинамики и метаболических сдвигов [1, 2, 6]. В литературе имеются единичные сведения об эффективности применения для этих целей системной озонотерапии [4, 7], однако подобные публикации немногочисленны.

В связи с этим целью настоящего исследования явилось изучение влияния системной озонотерапии на динамику вариабельности сердечного ритма у пациентов с алкогольным абстинентным синдромом.

### **Материалы и методы исследования**

Проведено открытое исследование функционального состояния здоровых людей и пациентов с зависимостью от алкоголя (в фазе абстинентного синдрома). Группа пациентов наркологического профиля была разделена на две подгруппы. Представители первой (основной) группы (n=45) получали стандартный вариант схемы лечения алкогольной абстиненции, коррекция состояния пациентов второй (группы сравнения) группы (n=45), кроме стандартных мероприятий, включала курс системной озонотерапии (внутривенное введение озонированного физиологического раствора с концентрацией озона 4000 мкг/л, 10 ежедневных процедур).

Запись ЭКГ осуществляли с помощью программно-аппаратного комплекса «Полиспектр-12» («Нейрософт», Россия). Исследование показателей ВРС проводилось в положении лежа с соблюдением стандартных условий регистрации кардиоинтервалограммы. ВРС оценивали с помощью комплекса статистических и спектральных методов анализа, включающего коэффициент вариации (CV, %), показатели спектрального анализа (на основе алгоритма быстрого преобразования Фурье с использованием всех точек без сглаживания): общая мощность спектра (TP, мс<sup>2</sup>), абсолютная и относительная мощность низкочастотных (PLF, мс<sup>2</sup>) и высокочастотных диапазонов (PHF, мс<sup>2</sup>), отношение мощностей (LF/HF) в нормализованных единицах.

Статистическую обработку результатов осуществляли алгоритмами вариационной статистики с использованием программы Statistica 6.1 for Windows.

### **Результаты**

С учетом особенностей реагирования сердечно-сосудистой системы пациентов на алкогольную абстиненцию, а также того, что вариабельность сердечного ритма является универсальным индикатором состояния организма и реализации его адаптационно-компенсаторных механизмов, нами в первую очередь проведена оценка динамики данного комплекса показателей в зависимости от проводимого лечения (включение в стандартный алгоритм ведения этих больных биорегулятора – озона).

Известно, что интегральным показателем деятельности сердца, отражающим совокупность автоматизма и регуляторных влияний, является средняя продолжительность кардиоцикла (частота сердечных сокращений). Анализ параметра позволил установить, что во всех сформированных контрольных точках статистически значимых различий между основной группой и группой сравнения не выявлено (рис. 1), однако подобная динамика не дает возможности судить о состоянии регуляторных механизмов, которые и формируют продолжительность кардиоцикла.

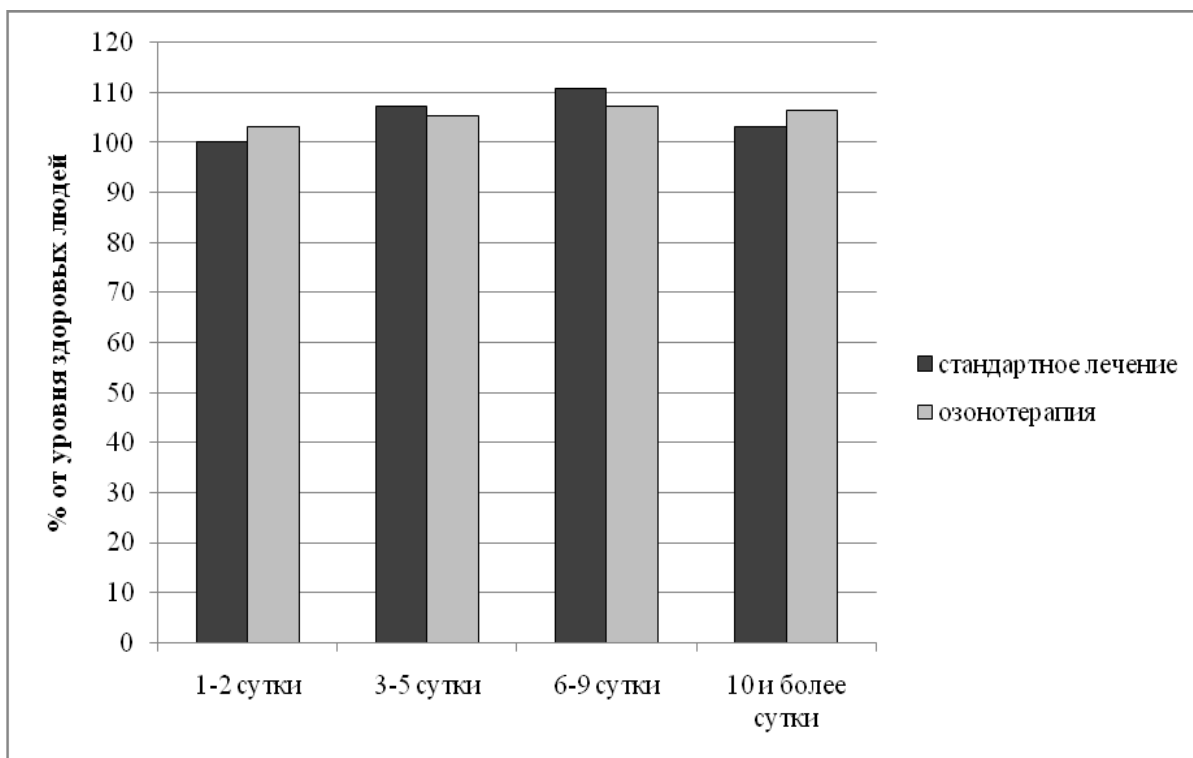


Рис. 1. Продолжительность кардиоцикла у пациентов с алкогольной абстиненцией с учетом использования системной озонотерапии

Выявлено, что при поступлении в клинику вариабельность кардиоритма у представителей обеих групп практически не различалась (рис. 2). Однако существенные межгрупповые вариации обнаружались уже во второй контрольной точке. Согласно данным 4 главы, 3-5 сутки после прекращения приема алкоголя следует считать наиболее опасным периодом в плане развития аритмогенных осложнений, что отображается в уровне показателя  $pNN50$ , зарегистрированного у лиц группы сравнения (до 900% от физиологических значений). У пациентов, получавших системную озонотерапию, нарастание данного параметра менее значительно (около 250% от нормы при обращении в клинику и около 340% - на 3-5 сутки абстинентного периода). Это можно расценивать как позитивный эффект данного варианта лечения. На 6-9 сутки наблюдения данная тенденция сохраняется, но становится менее выраженной (360 и 280% от нормы соответственно), практически сглаживаясь к концу лечения. В целом, применение озонированного физиологического раствора

способствует профилактике развития аритмогенных осложнений у пациентов с ААС.

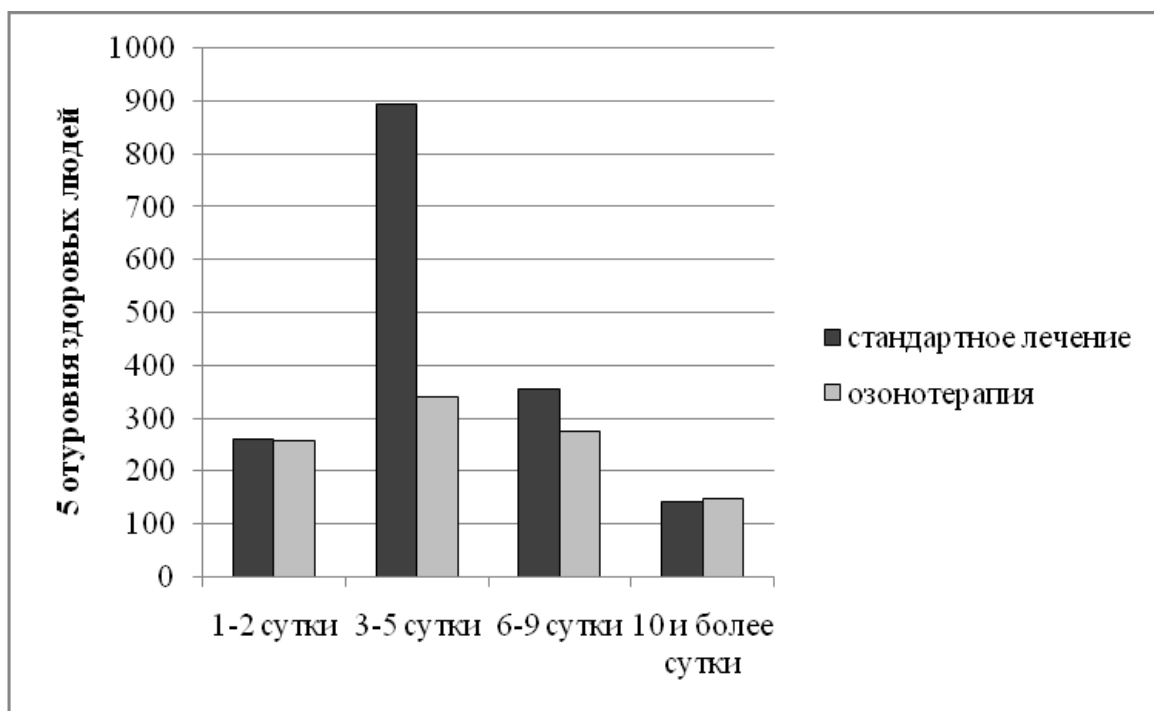


Рис. 2. Показатель рNN50 (%) у пациентов, лечение которых осуществляли по традиционной и включающей введение озонированного физиологического раствора схеме

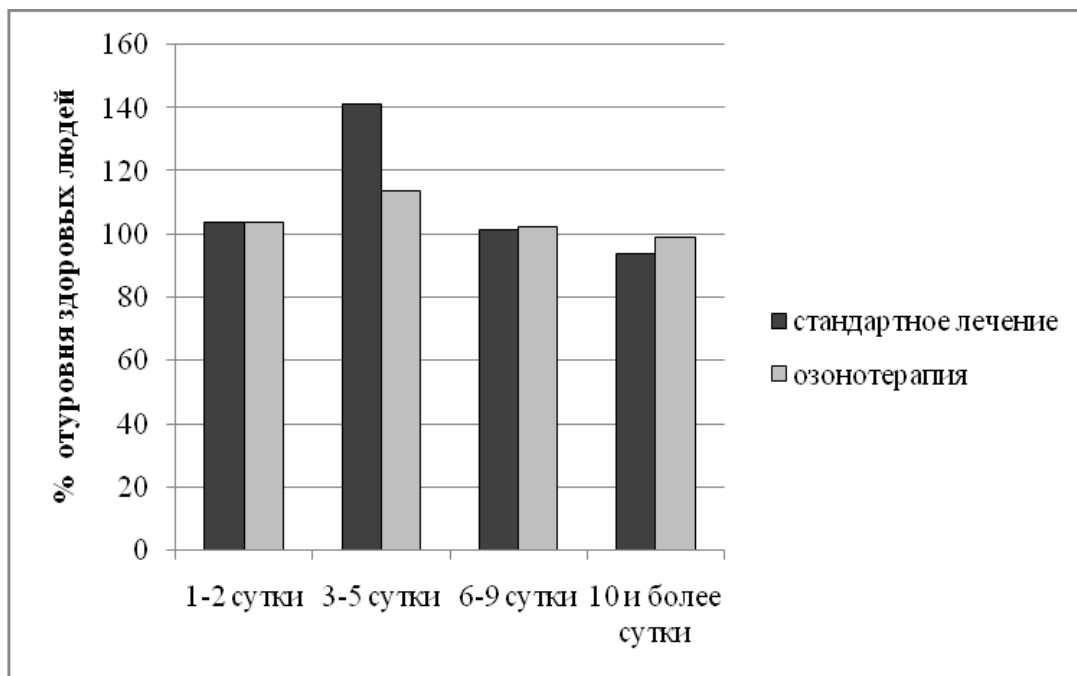


Рис. 3. Динамика коэффициента вариации кардиоритма больных наркологического профиля с учетом включения в алгоритм ведения системной озонотерапии

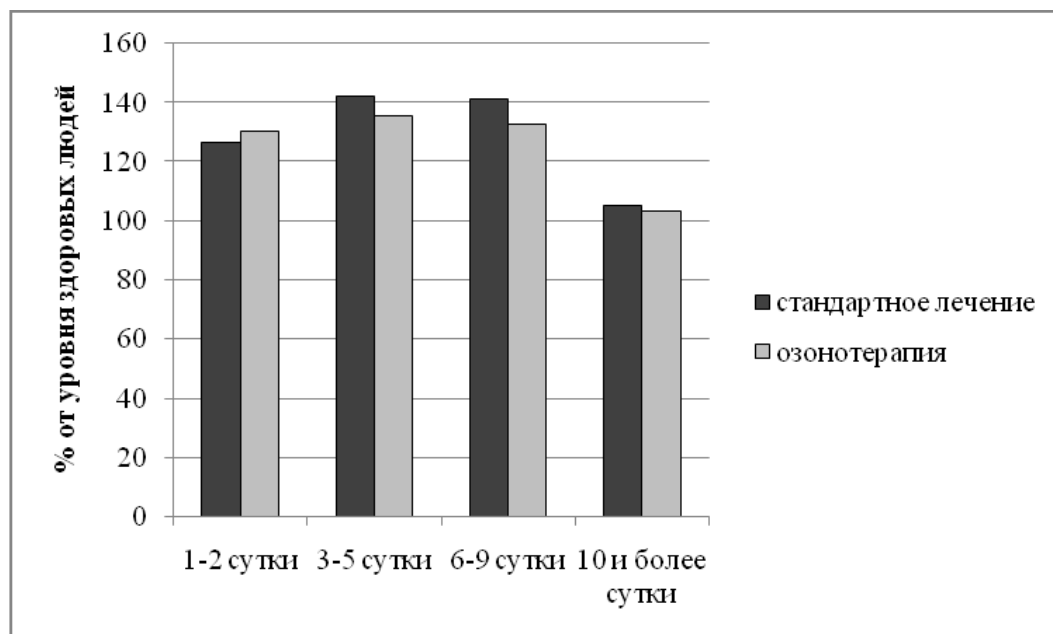


Рис. 4. Индекс напряжения у пациентов с алкогольным абстинентным синдромом в зависимости от проводимого лечения

Тенденции, аналогичные выявленным для параметра рNN50, обнаружены в отношении коэффициента вариации (рис. 3), однако данный показатель оказался менее чувствительным: статистически значимые межгрупповые различия выявлены по указанному параметру только во второй контрольной точке. Так, на 3-5 сутки периода абстиненции у представителей группы сравнения коэффициент вариации составляет более 140% от нормы, тогда как у лиц, получавших инфузии озонированного физиологического раствора, он лишь превышал 110% от контрольных значений. В дальнейшем, до завершения курса лечения изучаемый показатель практически не отличается от уровня здоровых людей.

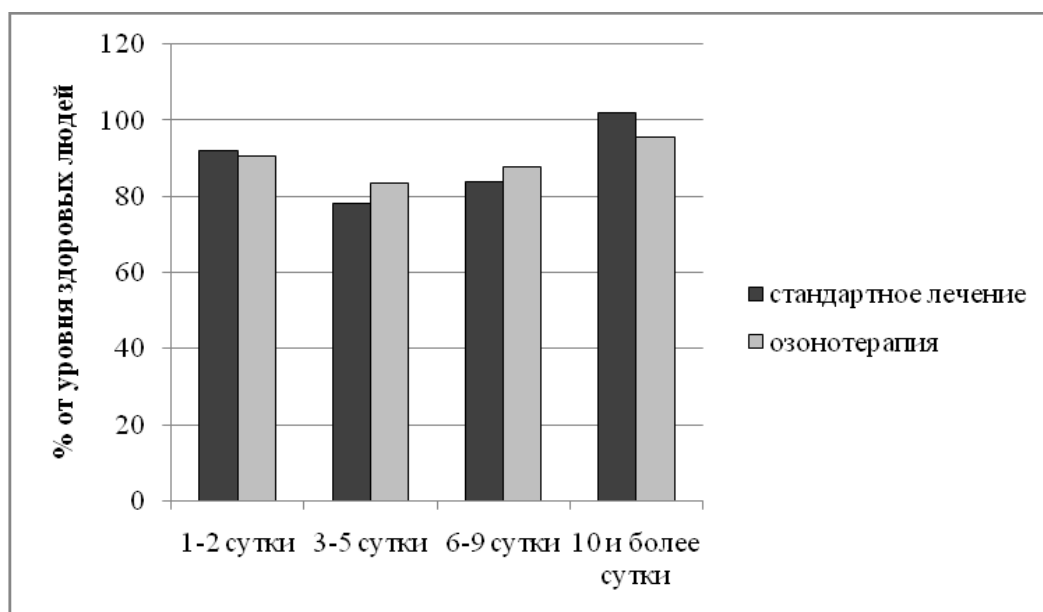


Рис. 5. Амплитуда моды у пациентов с алкогольным абстинентным синдромом в зависимости от проводимого лечения

Также нами проведена оценка динамики вегетативного обеспечения деятельности сердца в условиях применения различных вариантов коррекции алкогольного абстинентного синдрома (рис. 4-6). Установлено, что в отношении индекса напряжения у пациентов, получавших системную озонотерапию, наблюдали динамику данного параметра, более приближенную к физиологическим значениям, чем у больных, лечение которых осуществляли согласно стандартному алгоритму (рис. 4).

В то же время полная нормализация рассматриваемого показателя была выявлена одновременно для обеих групп – к моменту завершения курса лечения (на 10-15 сутки периода абстиненции). Межгрупповые различия хотя и присутствовали во всех точках, но достигли уровня значимости только на 6-9 сутки со времени прекращения приема спиртных напитков ( $p < 0,05$ ).

Аналогичная динамика была отмечена в отношении уровня амплитуды моды, отражающей, в отличие от индекса напряжения, участие парасимпатической стимуляции в регуляции кардиоритма (рис. 5). выявлено, что для этого параметра присутствующие минимальные межгрупповые вариации оказались значимыми во второй контрольной точке (на 3-5 сутки периода абстиненции) и по завершении лечения ( $p < 0,05$ ).

#### **Заключение**

В целом можно заключить, что применение системной озонотерапии оказывает благоприятное действие на функционирование сердечно-сосудистой системы (по параметрам variability сердечного ритма), проявляющееся в ускорении процессов нормализации регуляторных влияний на миокард, а также способствуя профилактике развития кардиоваскулярных осложнений, развивающихся в период алкогольной абстиненции.

#### **Список литературы**

1. Мартусевич А.К., Перетягин С.П., Жукова Н.Э. Адаптационные возможности сердца при интоксикации различной степени выраженности // Функциональная диагностика. 2011. №2. С. 20-23.
2. Мартусевич А.К., Перетягин С.П., Жукова Н.Э. Оценка уровня кардиореспираторной синхронизации при интоксикации организма // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2012. Вып. 43. С. 89-92.
3. Горюшкин И.И. Механизмы алкоголизма: регуляционно-структурные отношения (патогенез, диагностика, лечение). М.: Спутник+, 2008. - 151с.
4. Масленников О.В., Конторщикова К.Н. Озонотерапия: внутренние болезни. Н. Новгород: НГМА, 2015. 180 с.
5. Фридман Л. С. Наркология. М.: Бином - Невский проспект, 1998. – 318 с.
6. Энтин Г.М. с соавт. Алкогольная и наркотическая зависимость (практическое руководство для врачей). М.: Медпрактика-М, 2002. 426 с.
7. Bocci V. Ozone as a bioregulator. Pharmacology and toxicology of ozonotherapy today // J. Biolog. Regulators and Homeostatic agents. 1997. Vol. 10, N2/3. P. 31-53.
8. Guo R., Ren, J. Alcohol and acetaldehyde in public health: From marvel to menace // Int. J. Environ. Res. Public Health. 2010. Vol. 7. P. 1285-1301.

9. Husain K, Mejia J, Lalla J, Kazim S. Dose response of alcohol-induced changes in BP, nitric oxide and antioxidants in rat plasma // *Pharmacol. Res.* 2005. Vol. 51, N4. P. 337–343.

10. Meager E.A. et al. Alcohol-induced generation of lipid peroxidation products in humans // *J. Clin. Invest.* – 1999. – Vol. 104. – P. 805-813.



## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ДЕЙСТВИЯ ОКСИДА АЗОТА НА ЭЛЕКТРОКИНЕТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ

А. А. Мартусевич, А. В. Дерюгина

*ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия*

### **Abstract**

The aim of this study was estimation of erythrocyte electrophoretic mobility under the action of exogenous nitric oxide on blood specimens and organism of healthy rats. First (in vitro) stage of experiment was executed on blood specimens of 15 healthy peoples. Each specimen was divided into 3 portions (5 ml.). First portion was control (without any manipulations), other ones was sparged with NO-containing gas mixture with 20 and 100 ppm of NO. Second (in vivo) stage of experiment was performed on 40 male Wistar rats, divided into 4 groups, first of ones (n=10) was control. Animals of second to fourth group (n=10) got a daily inhalations of nitric oxide (NO concentration – 20, 50 and 100 ppm, respectively). Our study allows to demonstrate the single response for direct (at blood processing) and indirect (at inhalation course) action of these substances. High dose of nitric oxide (100 ppm) caused the decreasing of erythrocyte electrophoretic mobility. In opposite, low dose of NO (20 ppm) stabilized erythrocyte membranes by elevation of biofluid antioxidant potential. This effect leads to activation of erythrocyte electrokinetic properties in vivo (after the course of inhalation).

**Key words:** erythrocyte, electrophoretic motility, nitric oxide

Целью настоящего исследования служило экспериментальное изучение электрофоретической подвижности эритроцитов при действии экзогенного оксида азота на образцы крови практически здоровых доноров и организм здоровых животных (крыс). Первый этап эксперимента выполнен на образцах крови 15 здоровых доноров. Каждый образец был разделен на 3 равных порции по 5 мл., первая из которых являлась контрольной (с ней не производили никаких манипуляций), остальные барботировали NO-содержащей газовой смесью с концентрацией оксида азота 20 и 100 ppm соответственно. Вторым этапом эксперимента (in vivo) выполнен на 40 половозрелых крысах-самцах линии Вистар, разделенных на 4 группы. Первая группа животных (n=10) являлась контрольной. Животные второй-четвертой группы (n=10) на протяжении 10 дней получали ежедневные ингаляции газообразного оксида азота (концентрация соединения – 20, 50 и 100 ppm соответственно). На основании проведенных исследований обнаружен единый характер реагирования биосистем на непосредственное (при обработке крови) и опосредованное (в форме ингаляций) воздействие экзогенного газообразного оксида азота в изучаемых условиях. Так, высокие концентрации оксида азота (100 ppm) обеспечивают снижение

электрофоретической подвижности эритроцитов. Напротив, более низкие дозы NO (20 ppm оказывают стабилизирующее влияние на состояние мембран красных клеток крови, повышая антиоксидантный потенциал биосреды.

**Ключевые слова:** эритроциты, электрофоретическая подвижность, оксид азота

В настоящее время большое внимание уделяется активным формам кислорода и азота, объединенным общим понятием «биорадикалы» [1-3]. Известно, что данные соединения способны выступать в качестве универсальных молекулярных биорегуляторов, включающихся как в физиологические, так и патологические пути метаболизма [2, 4, 5]. Многими авторскими коллективами показано их многогранное и неоднозначное участие практически во всех компонентах метаболизма [1-3, 6-8], причем результирующий эффект биологического действия биорадикалов зависит непосредственно от дозы действующего агента [9, 10]. Следует отметить, что в отношении данных соединений часто имеет место нелинейная зависимость «доза - эффект» [11].

С другой стороны, особенности реализации модулирующего влияния биорадикалов, а особенно оксида азота, на биосистемы, обусловленные их природой и физико-химическими свойствами, расшифрованы недостаточно полно [4]. Так, неизвестным по-прежнему остается характер действия газообразного монооксида азота на электрокинетические свойства эритроцитов. Ранее было показано, что электрофоретическая подвижность эритроцитов (ЭФПЭ), являющаяся их количественным параметром, может рассматриваться как неспецифический индикатор состояния эритрона и его реакции на изменения гомеостаза и внешние воздействия на организм [9, 12-15]. В то же время подобные сведения имеются лишь в отношении озона, причем они приводятся только в единичных публикациях [9]. На основании этого **целью работы** служило изучение электрофоретической подвижности эритроцитов при действии экзогенного оксида азота в разных концентрациях на образцы крови и организм здоровых крыс.

### **Материал и методы исследования**

Проведенное исследование имело двухэтапный дизайн. На первом этапе изучали непосредственное влияние экзогенного оксида азота на кровь, а на втором – характер опосредованного эффекта указанных соединения на организм животного при ингаляционном воздействии.

Первый этап эксперимента (*in vitro*) выполнен на образцах крови 15 здоровых доноров. Каждый образец был разделен на 3 равных порции по 5 мл., первая из которых являлась контрольной (в ней не проводили никаких манипуляций), остальные барботировали NO-содержащей газовой смесью (концентрация оксида азота – 20 и 100 ppm соответственно). Барботаж производили путем медленного пропускания газа через весь объем биологической жидкости, находящейся в стандартной стеклянной пробирке (выходное отверстие-выпускник газа находилось на дне пробирки). Продолжительность экспозиции после обработки – 5 мин.

Второй этап эксперимента (*in vivo*) выполнен на 40 половозрелых крысах-самцах линии Вистар, разделенных на 4 групп. Первая группа животных ( $n=10$ ) являлась контрольной, с ними не проводили никаких манипуляций, кроме однократного получения крови. Животные второй-четвертой группы ( $n=10$ ) на протяжении 10 дней получали ежедневные ингаляции оксида азота (концентрация соединения в газовом потоке – 20, 50 и 100 ppm для указанных групп соответственно). Продолжительность воздействия составляла 10 мин., скорость потока газовой смеси – 2 л/мин. Синтез NO-содержащей воздушной смеси осуществляли с помощью экспериментального генератора, разработанного в РФЯЦ-ВНИИЭФ (г. Саров) [16].

Для проведения ингаляций крыс (по одной) помещали в эксикатор, через который осуществляли продувание газового потока.

По завершении полного курса воздействий у животных всех групп получали образцы крови. Из них выделяли эритроциты трехкратным отмыванием 0,85% раствором хлористого натрия с последующим центрифугированием в течение 10 мин при 1500 об./мин. Измерение ЭФПЭ проводили методом микроэлектрофореза в собственной модификации [9, 12, 17]. Суспензию эритроцитов (0,1%) помещали в 10 mM трис-HCl буфер (pH 7,4) и фиксировали перемещение клеток при силе тока 8 мА. Величину ЭФПЭ определяли по формуле:  $U = S/TH$ , где  $S$  – расстояние, на которое перемещались клетки,  $T$  – время перемещения клеток на расстояние  $S$ ,  $H$  – градиент потенциала.

Полученные данные были обработаны статистически в программном пакете Statistica 6.0. Нормальность распределения значений параметров оценивали с использованием критерия Шапиро-Уилка. С учетом характера распределения признака для оценки статистической значимости различий применяли  $H$ -критерий Краскала-Уоллеса.

### Результаты исследований

Оценка влияния различных концентраций оксида азота на электрокинетические свойства эритроцитов позволила установить, что данное воздействие вызывает дозозависимое снижение уровня ЭФПЭ (рис. 1).

При этом если при обработке крови относительно небольшим количеством NO (концентрация в газовой смеси – 20 ppm) эти сдвиги обнаруживаются лишь на уровне тенденции ( $p < 0,1$  по сравнению с контрольным образцом), то при барботаже биологической жидкости более высокой концентрацией оксида азота (100 ppm) выявлено снижение изучаемого параметра на 23% по отношению к контролю ( $p < 0,05$ ).

На втором этапе исследования изучали особенности модификации электрокинетических свойств мембран эритроцитов крыс при системном воздействии оксида азота. Было установлено, что, как и в отношении непосредственной обработки крови источниками радикалов, характер формируемых сдвигов ЭФПЭ определяется количеством воздействующего соединения. В частности, минимальная из примененных концентраций (20 ppm) обеспечивает нарастание значения показателя устойчивости мембран эритроцитов и их электрокинетической мобильности (рис. 2). В то же время применение газовой смеси с более высокими концентрациями (50 и 100 ppm)

дозозависимо снижало ЭФПЭ (на 15 и 31% относительно интактных животных соответственно;  $p < 0,05$  для обоих случаев). Это свидетельствует о особенностях реакции мембран изучаемых клеток крови на курсовое ингаляционное применение экзогенного оксида азота в указанных концентрациях.

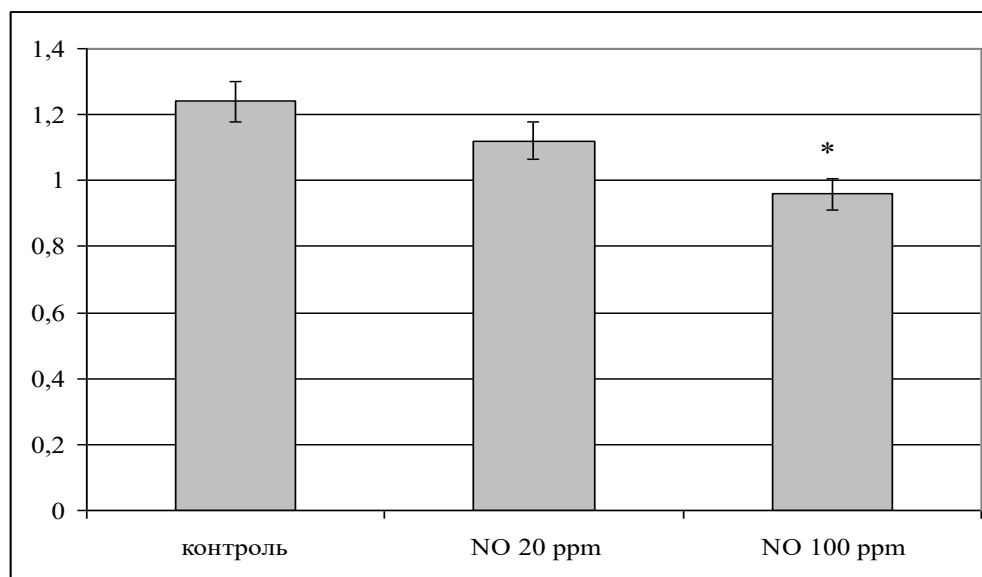


Рис. 1. Электрофоретическая подвижность эритроцитов ( $\mu\text{м}\cdot\text{см}\cdot\text{В}^{-1}\cdot\text{с}^{-1}$ ) при действии оксида азота в различной концентрации (\* - статистическая значимость различий по сравнению с контролем  $p < 0,05$ )

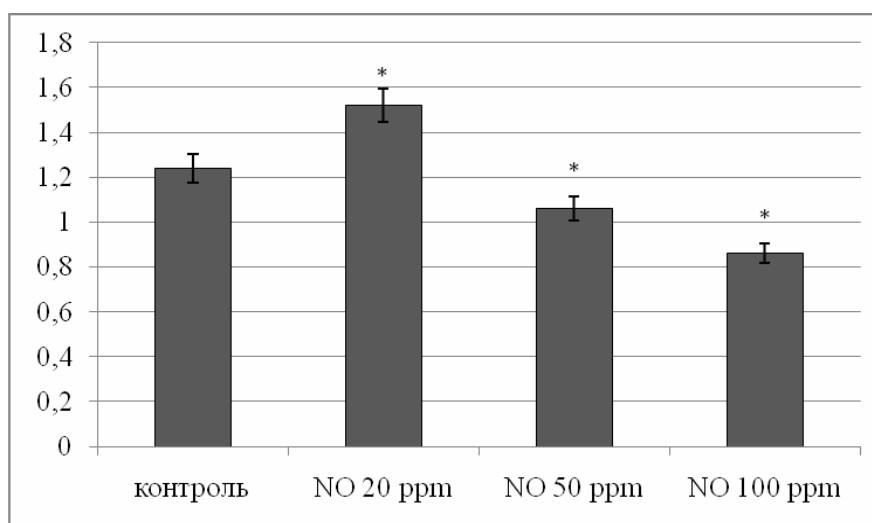


Рис. 2. Электрокинетические свойства эритроцитов крыс ( $\mu\text{м}\cdot\text{см}\cdot\text{В}^{-1}\cdot\text{с}^{-1}$ ) при проведении ингаляций оксида азота (\* - статистическая значимость различий по сравнению с контролем  $p < 0,05$ )

### Обсуждение результатов

В настоящее время убедительно показана биорегуляторная роль малых молекул-радикалов [2, 5, 24], к числу которых относятся активные формы кислорода и монооксид азота [1, 6, 25-27]. С другой стороны, этот постулат касается преимущественно эндогенно генерируемых соединений [5, 6, 20, 21], тогда как в отношении экзогенного их введения подобные сведения

немногочисленны [4, 7, 19, 22]. В наших предшествующих работах было экспериментально показано, что экзогенные источники нитросодержащих радикалов способны изменять ряд метаболических параметров крови, включая индикаторы состояния окислительного и энергетического обмена, эритроцитарных ферментных систем детоксикации, как в условиях *in vitro* (на образцах крови) [3, 11], так и *in vivo* (у здоровых крыс линии Вистар при ингаляционном и внутрибрюшинном введении) [8, 28, 29]. При этом продемонстрирован дифференцированный и дозозависимый характер ответа на воздействие данного химического соединения. В частности, в этих исследованиях установлено модулирующее действие оксида азота на состояние мембран эритроцитов. Данный эффект был проиллюстрирован на примере динамики перекисной резистентности, характеризующей интенсивность процессов липопероксидации в эритроцитарных мембранах [28, 29].

Учитывая то обстоятельство, что ЭФПЭ в последние десятилетия рассматривается как интегральный параметр, позволяющий оценивать целостность и функциональные свойства мембран изучаемых клеток крови [9, 12, 14, 15, 17], представляло интерес уточнить особенности сдвигов данного показателя в условиях влияния эндогенного источника радикалов и сопоставить его реализацию при непосредственной обработке крови и при системном применении фактора (в форме курса ингаляций).

Установлено газообразный оксид азота в низкой концентрации (20 ppm), для которого ранее нами показано выраженное антиоксидантное действие на биосистемы [3, 8, 26], способствует упрочнению липидного каркаса мембран, ингибируя процессы перекисного окисления липидов в последних, повышая мобильность эритроцитов в электрическом поле. Эти сдвиги ЭФПЭ, характерные для курсовых ингаляций NO в концентрации 20 ppm, трактуются нами как благоприятные, проадаптивные. Приведенные результаты полностью подтверждают ранее продемонстрированное положительное действие указанного фактора на метаболические параметры крови, в частности, на состояние окислительного и энергетического обмена, ферментных систем детоксикации и др. [8, 28, 29]. Это позволяет предположить, что одной из основных «точек приложения» экзогенных источников радикалов выступают свободнорадикальные процессы в мембранах эритроцитов, опосредующие биологические эффекты изучаемых соединений.

Высокие концентрации оксида азота (100ppm) обеспечивают снижение электрофоретической подвижности эритроцитов.

По нашему мнению, подобный характер ответа биосистемы на введение NO связан с тем, что небольшие количества последнего, утилизируясь в процессе реализации его биорегуляторной активности [4, 19-21] и частично трансформируясь в депонирующие соединения (S-нитрозотиоды, динитрозильные комплексы железа с высоко- и низкомолекулярными лигандами [4, 22, 23]), не включаются в свободнорадикальные процессы, протекающие в плазме и клетках крови.

С другой стороны, воздействие более высокой концентрацией NO обеспечивает условия для формирования его неутилизированного избытка,

который способен трансформироваться в высокореактивные химические соединения, в частности пероксинитрит [10, 24]. Обладая крайне высоким окислительным потенциалом, он может атаковать мембраны клеток крови, в том числе эритроцитов, потенцируя интенсивность свободнорадикальных процессов в них. Это, в свою очередь, приводит к изменению структуры эритроцитарных мембран и, как следствие, - к сдвигами ЭФПЭ.

### Заключение

На основании проведенных исследований обнаружен единый характер реагирования биосистем на непосредственное (при обработке крови) и опосредованное (в форме ингаляций) воздействие газообразного оксида азота в изучаемых условиях. Так, высокие концентрации оксида азота (100 ppm) обеспечивают снижение электрофоретической подвижности эритроцитов. Напротив, более низкие дозы NO (20 ppm) оказывают стабилизирующее влияние на состояние мембран красных клеток крови, повышая антиоксидантный потенциал биосреды. Подобный эффект указанных концентраций способствует стимуляции электрокинетических свойств эритроцитов в эксперименте *in vivo* (при курсовых ингаляциях). Таким образом, показано, что оксид азота специфично и дозозависимо влияет на электрокинетические свойства эритроцитов в условиях *in vitro* и *in vivo*.

### Список литературы

1. Граник В.Г., Григорьев Н.Б. Оксид азота (NO). Новый путь к поиску лекарств. Вузовская книга, Москва, 2004.
2. Костюк В.А., Потапович А.И. Биорадикалы и биоантиоксиданты. БГУ, Минск, 2004.
3. Мартусевич А.К., Соловьева А.Г., Перетягин С.П., Митрофанов В.Н. // Биомедицина. 2013. №1. С. 103.
4. Vanin A.F. // Nitric Oxide Biol. Chem. 2009. Vol. 21. P. 136.
5. Гусакова С.В., Ковалев И.В., Смаглий Л.В. с соавт. // Успехи физиологических наук. 2015. Т. 46, №4. С. 53.
6. Реутов В.П., Охотин В.Е., Шуклин А.В. с соавт. // Успехи физиологических наук. 2007. Т. 38, №4. С. 39.
7. Ванин А.Ф., Чазов Е.И., Капелько В.И. с соавт. // Кардиологический вестник. 2007. №2. С. 31.
8. Мартусевич А.А., Соловьева А.Г., Мартусевич А.К. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2013. Т. 156. №7. С. 51.
9. Симутис И.С., Дерюгина А.В., Бояринов Г.А. с соавт. // Медиаль. 2013. №4. С. 20.
10. van der Vliet A., Eiserich J.P., Halliwell B., Cross C.E. // J. Biol. Chem. 1997. Vol. 272. P. 7617.
11. Мартусевич А.К., Соловьева А.Г., Перетягин С.П. // Современные технологии в медицине. 2013. Т. 5, №4. С. 33.
12. Крылов В.Н., Дерюгина А.В. // Гематология и трансфузиология. 2011ю №5. С. 18.
13. Nihei Y., Asai H., Ukai T., Marimoto H., Nakajima Y., Hanajiri T., Maekawa T. // Sensors and actuators. 2008. Vol. 131. P. 285.

14. Sheremetev Y.A., Suslov F.I., Deriugina A.V., Sheremetev A.V. // *Biophysics*. 2000. Vol. 45, №1. P. 79.
15. Xie L., Sun D., Yao W., Wen Z. // *Science in China*. 2002. Vol. 45, №1. С. 50.
16. Карелин В.И., Буранов С.Н., Пименов О.А. с соавт. // *Медиаль*. 2013. №4. С. 46.
17. Крылов В.Н., Дерюгина А.В., Плескова С.Н. // *Современные технологии в медицине*. 2010. №4. С. 23.
18. Перетягин С.П., Стручков А.А., Мартусевич А.К. с соавт. // *Скорая медицинская помощь*. 2011. Т. 12, №3. С. 39.
19. Ванин А.Ф., Манухина Е.Б., Малышев И.Ю. с соавт. // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2006. №12. С. 626.
20. Ignarro L.J., Byrns R.E., Buga G.M. // *Circulation Research*. 1987. Vol. 61. P. 866.
21. Murad F. // *Neurotransmissions*. 1994. Vol. 10. P. 1.
22. Shumaev K.B., Gubkin A.A., Serezhenkov V.A. et al. // *Nitric Oxide Biol. Chem.* 2008. Vol. 18. P. 37.
23. Титов В.Ю. с соавт. // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2012. Т. 153. С. 816.
24. Halliwell B., Gutteridge J.M.C. *Free radicals in biology and medicine*. Oxford, UK: Oxford University Press, 1999.
25. Заворотная Р.М. // *Украинский ревматологический журнал*. 2002. №1. С. 35.
26. Мартусевич А.А., Перетягин С.П., Мартусевич А.К. // *Современные технологии в медицине*. 2012. №2. С. 128-134.
27. Самосюк И.З., Фисенко Л.И. (ред.) *Синглетно-кислородная терапия*, Киев, 2007.
28. Мартусевич А.К., Соловьева А.Г., Ашихмин С.П., Перетягин С.П. // *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2015. Т. 101, №2. С. 180.
29. Martusevich A.K., Peretyagin S.P., A.G. Soloveva, Martusevich A.A., Plekhaniova A.D. // *Biophysics (Moscow)*. 2016. Vol. 61, №1. P. 139.

## ВЛИЯНИЕ ХОЛОДНОЙ ГЕЛИЕВОЙ ПЛАЗМЫ НА КРИСТАЛЛОГЕННЫЕ СВОЙСТВА КРОВИ

<sup>1-3</sup>Мартусевич А.К., <sup>1</sup>Краснова С.Ю., <sup>3</sup>Ковалева Л.К., <sup>2</sup>Козлова Л.А.

<sup>1</sup>ФГБУ «ПФМИЦ» Минздрава России, Нижний Новгород, Россия

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Нижегородская ГСХА», Нижний Новгород, Россия

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО Кировский ГМУ Минздрава России, Нижний Новгород, Россия

### Abstract

The aim of this study was estimation of modification of blood plasma crystallogenic properties under processing with cold helium plasma *in vitro*. Our experiment was carried on 10 blood specimens from healthy volunteers. Each specimen was divided into 3 portions. First portion was control (without any manipulations), and second and third portions were processed with flow of cold helium plasma (processing time -1 and 3 min., respectively). This study demonstrated clear modulating effect of cold helium plasma on crystallogenic properties of human blood serum. In addition, we fixed dose-dependent action of this agent on response of biological fluid. It was stated that more optimal response to processing was characterized for faster manipulation (1 min.)

**Key words:** cold plasma, helium, blood serum, crystallogenic properties

Целью исследования явилось изучение модификации кристаллогенных свойств плазмы крови при обработке последней холодной гелиевой плазмой *in vitro*. Эксперимент выполнен на образцах крови 10 здоровых добровольцев. Каждый образец крови делили на 3 равных порции (по 3 мл), первая из которых являлась интактной (с ней не проводили ни каких манипуляций), вторая и третья обрабатывались потоком гелиевой холодной плазмы в течение 1 и 3 минут соответственно. Проведенное исследование позволило продемонстрировать выраженную модулирующий эффект холодной гелиевой плазмы в отношении кристаллогенных свойств сыворотки крови человека. При этом установлено, что имеет место дозозависимость реакции изучаемой характеристики биосреды на данное воздействие, причем более оптимальным представляется ответ последней на менее продолжительную обработку (1 мин).

**Ключевые слова:** холодная плазма, гелий, сыворотка крови, кристаллогенные свойства

В настоящее время изучение биомедицинских аспектов применения холодной плазмы является одним из трендов развития новых медицинских технологий [1, 4, 7, 10-15]. В России и за рубежом создан ряд программно-аппаратных комплексов для генерации холодной плазмы в медицинских целях [1, 5, 6, 8]. С другой стороны, непосредственные биологические эффекты холодной плазмы изучены недостаточно полно, причем акцент данных исследований смещен в сторону всестороннего рассмотрения антибактериальной активности



данного физического фактора [8-10, 13]. Вследствие этого целесообразным является уточнение других механизмов и эффектов холодной плазмы в отношении биологических систем различного уровня организации.

Следует также отметить, что большинством специалистов изучаются свойства и эффекты холодной плазмы, полученной из атмосферного воздуха (cold atmospheric plasma) [1, 4-15]. В то же время стандартизация состава исходной газовой смеси и конечного продукта ионизации в этом случае крайне затруднительна.

Известно, что одним из индикаторов физико-химических свойств биологических жидкостей служит оценка их кристаллогенной активности, производимая методами новой биомедицинской науки – биокристалломики [2, 3]. Подобная технология позволяет как описать морфологические изменения кристаллообразования биологических субстратов, так и изучить их количественно, с применением критериальной оценки [2]. На этом основании кристаллоскопический анализ рассматривается как метод исследования состояния и динамики биосистем по их метаболическому статусу [2, 3]. Следует отметить, что для тестирования биологической активности холодной гелиевой плазмы данная технология ранее не применялась.

В связи с этим целью настоящего исследования явилось изучение модификации кристаллогенных свойств плазмы крови при обработке последней холодной гелиевой плазмой *in vitro*.

### **Материалы и методы**

Материалом исследования послужили образцы крови 10 практически здоровых добровольцев. Каждый образец крови делили на 3 равных порции (по 3 мл), первая из которых являлась интактной (с ней не проводили ни каких манипуляций), вторая и третья обрабатывались потоком гелиевой холодной плазмы в течение 1 и 3 минут соответственно. Гелиевая плазма генерировалась специальным устройством, разработанным в институте прикладной физики РАН (г. Нижний Новгород) и использующем принцип СВЧ-ионизации газа.

Перед проведением кристаллоскопического исследования все образцы биологической жидкости центрифугировали по стандартной методике до получения плазмы. Далее изучали собственную кристаллогенную активность плазмы крови методом классической кристаллоскопии [2]. Описание дегидратированных образцов плазмы крови производили морфологически и с применением системы визуаметрических параметров, характеризующих качественные и количественные стороны процесса кристаллизации биосреды (кристаллизуемость, индекс структурности, степень деструкции фации, выраженность ее краевой зоны).

Статистическую обработку результатов осуществляли алгоритмами вариационной статистики с использованием Statistica 6.1 for Windows.

### **Результаты исследований**

Проведенное кристаллоскопическое исследование позволило верифицировать наличие модулирующего эффекта гелиевой низкотемпературной плазмы в отношении физико-химических параметров изучаемой биологической жидкости - плазмы крови практически здоровых людей (рис. 1).

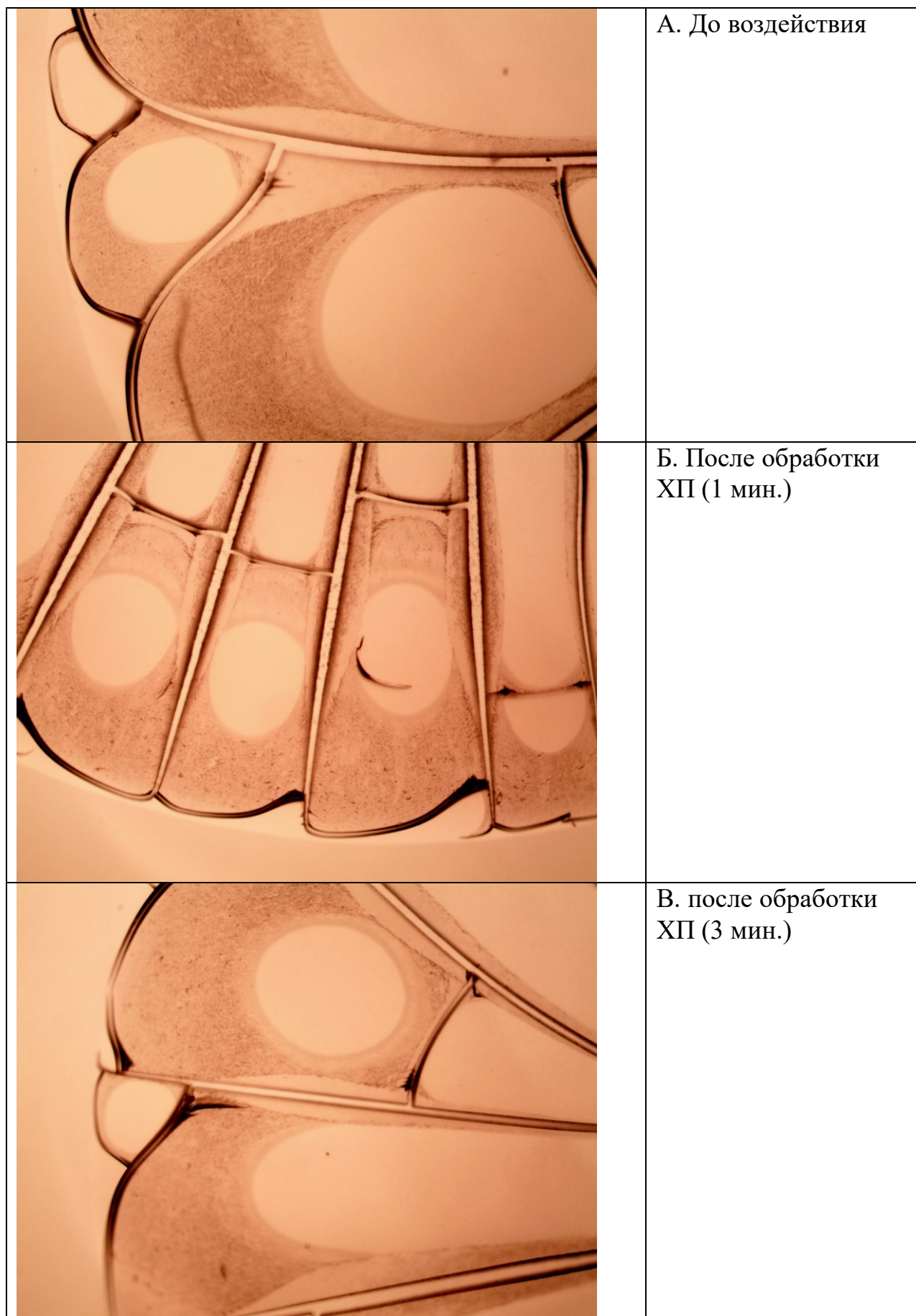


Рис. 1. Влияние продолжительности обработки на морфологию высушенных образцов сыворотки крови (ув. х56; ХП – холодная плазма)

Морфологически в кристаллоскопической фации интактной биосреды (рис. 1А) обнаруживали относительно регулярную структуру, фрагментированную аркообразными разломами. В микропрепарате присутствуют единичные одиночные кристаллические элементы с умеренной степенью деструкции. При этом краевая зона высушенных образцов крови сформирована, но отличается сравнительно небольшим диаметром. Равномерность распределения структурных элементов по микропрепарату умеренная.

В микропрепаратах изучаемой биосреды после 1 минуты обработки гелиевой холодной плазмой наблюдали существенную морфологическую перестройку по сравнению с интактными образцами (рис. 1Б). Эти особенности заключались, в частности, в регуляризации общей структуры фации, что в первую очередь обеспечивалось формированием регулярных центростремительных линейных разломов, фрагментирующих образец на равные отдельности. Кроме того, проведение обработки в данном режиме способствует умеренному нарастанию активности кристаллообразования. Также в этих образцах имело место расширение краевой зоны, сопровождающееся оптимизацией ее структуры и полным отсутствием кристаллических включений. Все элементы микропрепарата либо практически не имеют признаков деструкции, либо последние выражены минимально.

Увеличение продолжительности обработки крови холодной гелиевой плазмой до 3 минут индуцирует в фациях данной биологической жидкости аналогичные предыдущему случаю особенности, но выделяется ряд принципиальных отличий. Во-первых, при сохранении регулярности структуры разломов их плотность существенно снижается. Они становятся менее правильными по направленности. Во-вторых, значительно увеличивается количество образующихся кристаллических элементов, причем они имеют средний уровень разрушения, чего не фиксировали ни в интактных образцах, ни после 1-минутного воздействия гелиевой холодной плазмы.

Краевая зона микропрепаратов плазмы крови минимальна, хотя и имеет относительно правильную структуру. Таким образом, морфологически обнаруживается модулирующий эффект гелевой холодной плазмы на кристаллогенные свойства сыворотки крови, являющийся функцией от времени обработки биологической жидкости.

После морфологического описания кристаллических фаций биологической жидкости в изучаемых условиях далее был произведен визуаметрический анализ микропрепаратов.

По основному количественному критерию – кристаллизруемости - выявлена прямая зависимость между продолжительностью действия холодной гелиевой плазмы и действием параметра (рис. 2). В частности, при односторонней обработке биологической жидкости рассматриваемым фактором отмечали расширение краевой зоны на 50% относительно интактного образца, тогда как при длительном воздействии (3 минуты) уровень показателя возрастал в 2,97 раза ( $p < 0,05$  по отношению к контролю), превышая в условных единицах, что соответствует 10-20 кристаллам в краевой зоне. Кроме того, были зафиксированы

статистически достоверные различия между выбранными режимами обработки ( $p < 0,05$ ).

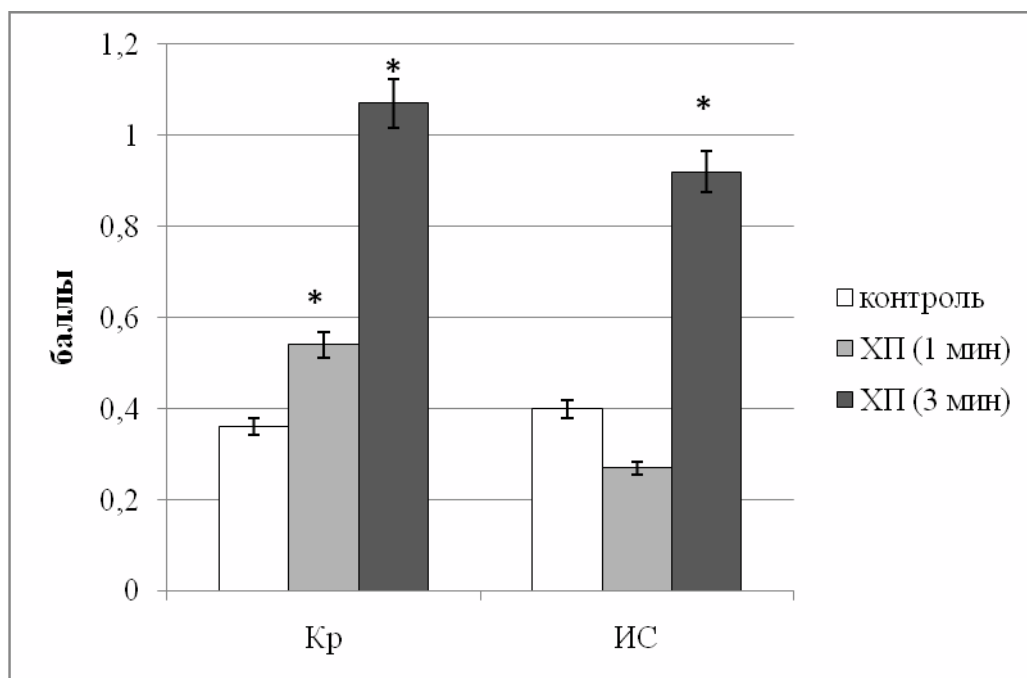


Рис. 2. Кристаллизуемость и индекс структурности в кристаллограммах сыворотки крови при ее обработке холодной плазмой (Кр – кристаллизуемость, ИС – индекс структурности, ХП – холодная плазма; «\*» - различия по сравнению с контрольным образцом статистически значимы,  $p < 0,05$ )

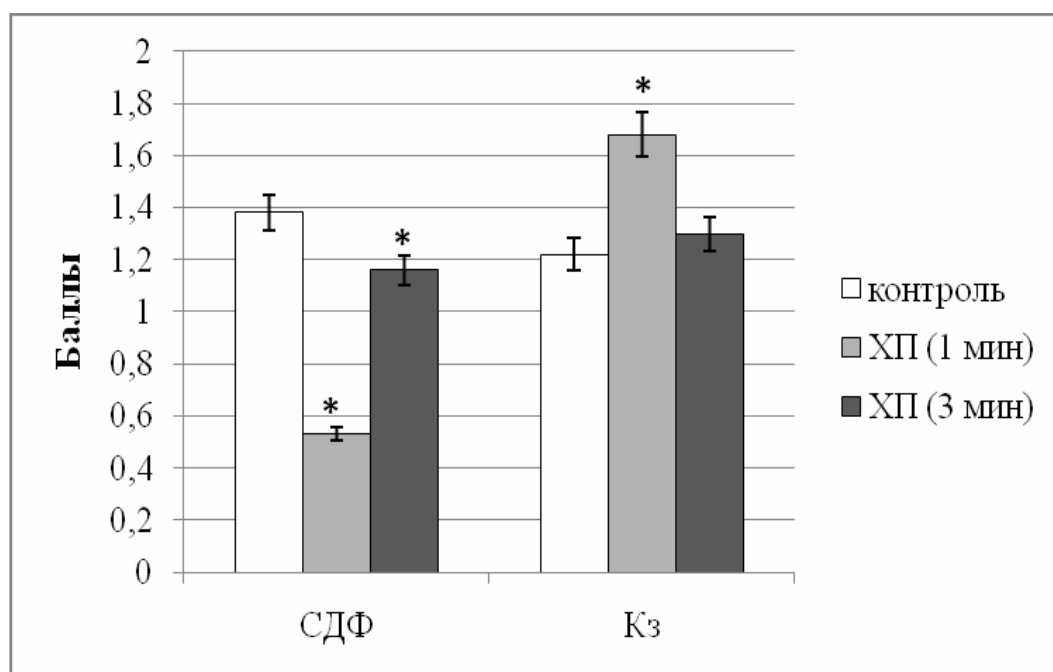


Рис. 3. Степень деструкции фации и выраженность краевой зоны в фациях сыворотки крови при ее обработке холодной плазмой (Кр – кристаллизуемость, ИС – индекс структурности, ХП – холодная плазма; «\*» - различия по сравнению с контрольным образцом статистически значимы,  $p < 0,05$ )

Иная динамика ответа была обнаружена в отношении качественного параметра кристаллоскопического теста, свидетельствующего о сложности структуропостроения элементов фации. Выявлено, что воздействие гелиевой холодной плазмы в течение 1 минуты умеренно, на уровне тенденции снижает данный показатель ( $p < 0,1$ ), в то время как трехкратное увеличение продолжительности действия фактора приводит к резкому нарастанию уровня индекса структурности (в 2,3 раза;  $p < 0,05$  по сравнению с интактным образцом).

Неодинаковый характер ответа на обработку холодной гелиевой плазмой был продемонстрирован для других оценочных показателей – степени деструкции фации и выраженности краевой белковой зоны (рис. 3). В частности, степень правильности процессов кристаллообразования в микропрепаратах сыворотки крови при обоих изучаемых воздействиях снижалась ( $p < 0,05$  для обоих случаев относительно контрольного образца), однако это происходило значительно более выражено при экспозиции в 1 минуту (в 2,6 раза против 1,19 раз при трехминутной обработке холодной плазмой).

Размеры краевой зоны, оцениваемые с помощью соответствующего показателя, значимо повышались лишь в режиме более короткого воздействия холодной плазмы (на 37,7%;  $p < 0,05$  по сравнению с интактным образцом), тогда как увеличение времени обработки образцов крови нивелировало этот эффект.

#### **Заключение**

В целом, проведенное исследование позволило продемонстрировать выраженную модулирующий эффект холодной гелиевой плазмы в отношении кристаллогенных свойств сыворотки крови человека. При этом установлено, что имеет место дозозависимость реакции изучаемой характеристики биосреды на данное воздействие, причем более оптимальным представляется ответ последней на менее продолжительную обработку (1 мин).

#### **Список литературы**

1. Алейник А.Н. Плазменная медицина: учебное пособие. Томск: Изд-во ТПУ, 2011. 45 с.
2. Мартусевич А.К. Биокристалломия в молекулярной медицине / Под ред. В.Л. Эмануэля. СПб.: Издательство СПбГМУ – Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2011. 112 с.
3. Мартусевич А.К., Воробьев А.В., Гришина А.А., Русских А.П. Физиология и патология кристаллостаза: общая парадигма и перспективы изучения // Вестник Нижегородского университета им Н.И. Лобачевского. 2010. №1. С. 135-139.
4. Alkawareek M.Y., Gorman S.P., Graham W.G., Gilmore, B.F. Potential cellular targets and antibacterial efficacy of atmospheric pressure non-thermal plasma // Int J. Antimicrob. Agents. 2014. Vol. 43. P. 154–160.
5. Alshraideh N.H., Higginbotham S., Flynn P.B. et al. Eradication and phenotypic tolerance of Burkholderia cenocepacia biofilms exposed to atmospheric pressure non-thermal plasma // Int. J. Antimicrob. Agents. 2016. Vol. 47. P. 446-450.
6. Butscher D., Zimmermann D. et al. Plasma inactivation of bacterial endospores on wheat grains and polymeric model substrates in a dielectric barrier discharge // Food Control. 2016. Vol. 60. P. 636–645.

7. Dobrynin D., Fridman D., Friedman G., Fridman A. Physical and biological mechanisms of direct plasma interaction with living tissue // *New J. Phys.* 2009. Vol. 11. P. 1–26.
8. Duske K., Wegner K., Donnert M. et al. Comparative in vitro study of different atmospheric pressure plasma jets concerning their antimicrobial potential and cellular reaction // *Plasma Process Polym.* 2015. Vol. 12. P. 1050-1060.
9. Ermolaeva S.A., Varfolomeev A.F., Chernukha M. Yu. et al. Bactericidal effects of non-thermal argon plasma in vitro, in biofilms and in the animal model of infected wounds // *J. Med. Microbiol.* 2011. Vol. 60. P. 75–83.
10. Flynn P.B., Busetti A., Wielogorska E. et al. Potential cellular targets and antibacterial efficacy of atmospheric pressure non-thermal plasma // *Sci. Rep.* 2016. Vol. 6. P. 26320.
11. Kong M.G., Kroesen G., Morfill G. et al. Plasma medicine: an introductory review // *New J. Phys.* 2009. Vol. 11. P. 115012.
12. Laroussi M. Low-temperature plasmas for medicine? // *IEEE Trans. Plasma Sci.* 2009. Vol. 37. P. 714-725.
13. Scholtz V. et al. Nonthermal plasma - A tool for decontamination and disinfection // *Biotechnol. Adv.* 2015. Vol. 33, N6. P. 1108-1119.
14. Stoffels E., Sakiyama Y., Graves D.B. Cold atmospheric plasma: charged species and their interactions with cells and tissues // *IEEE Trans. Plasma Sci.* 2008. Vol. 36. P. 1441-1457.
15. Wiegand C., Fink S., Beier O. et al. Dose- and Time-Dependent Cellular Effects of Cold Atmospheric Pressure Plasma Evaluated in 3D Skin Models // *Skin Pharmacol. Physiol.* 2016. Vol. 29. P. 257-265.

## НАРУШЕНИЯ В БАЛАНСЕ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АНТИРАДИКАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ ЗАЩИТЫ У БОЛЬНЫХ С ТРУБНО-ПЕРИТОНЕАЛЬНЫМ БЕСПЛОДИЕМ

Никишов Н.Н.<sup>1</sup>, Клементе Апумайта Х.М.<sup>2</sup>, Журина И.Ю.<sup>3</sup>,

Гагаева Ю.А.<sup>3</sup>, Вотинцева В.О.<sup>3</sup>, Хамидова А.Р.<sup>3</sup>

*1 - Медицинский институт БФУ им. И. Канта, г. Калининград*

*2 - ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» МЗ РФ, г. Москва*

*3 - ФГБОУ ВО НижГМА Минздрава России, г. Нижний Новгород*

### **Abstract**

The article presents data on the status of lipid peroxidation and antioxidant protection in patients with tubal-peritoneal infertility. Based on the identified intensification of lipid peroxidation and failure of antioxidant defense components of the conclusion about expediency of correction of these parameters in the complex pathogenetic treatment of this group of patients.

**Key words:** tubal-peritoneal infertility, lipid peroxidation, antioxidant defense

В статье представлены данные о состоянии перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты у больных трубно-перитонеальным бесплодием. На основании выявленной интенсификации липопероксидации и недостаточности компонентов антиоксидантной защиты сделан вывод о целесообразности коррекции этих параметров в комплексном патогенетическом лечении данной группы пациенток.

**Ключевые слова:** трубно-перитонеальное бесплодие, перекисное окисление липидов, антиоксидантная защита

Проблема бесплодия, всегда находившаяся на острие внимания акушеров-гинекологов, в настоящее время приобретает еще большую актуальность в условиях нестабильной демографической ситуации [1, 2]. По данным ряда исследователей, частота бесплодного брака в России составляет 15-17% и имеет тенденцию к росту [3, 4], при этом ведущей формой бесплодия у женщин является трубно-перитонеальная (от 40 до 74%). Причиной непроходимости маточных труб чаще всего служат острые и хронические воспалительные процессы органов малого таза, особенностью которых является их стертый характер [2]. Очевидно при этом, что патогенез данного заболевания обусловлен не только развитием деформирующего процесса в маточных трубах и присутствием в них инфекта, но включает иммунологические механизмы на местном и системном уровне, другие возможные аспекты. Их выяснению и посвящена данная работа.

**Цель работы:** определить состояние перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной системы защиты (АОСЗ) у больных с трубно-перитонеальным бесплодием (ТПБ).

#### **Материал и методы исследования**

Было обследовано 90 женщин в возрасте от 28 до 36 лет (средний возраст составил 32,5 года), которые были разделены на три группы. Первую группу составили 30 женщин без соматической или гинекологической патологии, служивших контролем. Во вторую группу вошли 30 пациенток с диагнозом «бесплодие трубно-перитонеального генеза», который был установлен лапароскопически. В третью группу были включены 30 больных с острыми сальпингоофоритами.

Помимо общепринятых физикальных, инструментальных и лабораторных исследований беременным проводилось изучение состояния ПОЛ и АОСЗ крови.

В нашей работе для предварительной оценки интенсивности свободно-радикального окисления использовался скрининговый метод индуцированной хемилюминесценции сыворотки крови на приборе биохемилуминометре БХЛ-06 по показателям  $I_{\max}$  в  $mv/сек$ ,  $S$  в  $mv/сек.$ ,  $tg2\alpha$ , где:

$I_{\max}$  - максимальная интенсивность свечения;  $S$  - светосумма за 30 секунд – величина, обратно пропорциональная антиоксидантной активности проб;  $tg2\alpha$  - параметр, характеризующий скорость спада процессов ПОЛ, который обратно пропорционален активности АОСЗ.

Для оценки интенсивности процессов ПОЛ измеряли уровни молекулярных продуктов перекисления: первичных - диеновых конъюгатов и конечных - оснований Шиффа.

Содержание ДК определяли в метанол-гексановой липидной фракции (5:1) при длине волны поглощения 233нм. Количество конечных продуктов ПОЛ – полимерных флуоресцирующих оснований Шиффа (ОШ) анализировали с помощью флуориметра при длине волны возбуждения 365нм и длине волны эмиссии 420нм. Содержание общих липидов в сыворотке крови определяли при помощи диагностических наборов “Lachema”.

С целью уточнения состояния антирадикальной системы защиты организма определяли уровень активности ферментов супероксиддисмутазы и каталазы в крови. Активность каталазы определяли спектрофотометрически по убыли перекиси водорода в среде, супероксиддисмутазы – в тесте с нитросиним тетразолием, единицы измерения – Ед./г Нв в мин.

Статистическая обработка данных клинических и лабораторных исследований проводилась методами вариационной статистики с использованием пакета МЕДСТ, программы Статистика 6,0. Достоверность различия признаков устанавливали с помощью t-критерия Стьюдента, за достоверные признавали различия при  $p < 0,05$ .

#### **Результаты исследования и обсуждение**

Изучение интенсивности ПОЛ методом индуцированной хемилюминесценции позволило выявить (таблица 1), что все исследуемые показатели у больных, т.е. пациенток II и III группы обнаружили отличия от здоровых женщин, причем степень этих отличий находилась в прямой



зависимости от выраженности воспалительного процесса. При наличии диагностированного ТПБ и отсутствии признаков острого или обострения хронического воспалительного процесса в придатках матки уровень  $I_{\max}$  оказался выше, чем у здоровых в 1,72 раза, показатель  $S$  - в 1,56 раза,  $\text{tg } 2$  альфа - в 1,84 раза ( $p < 0,05$  во всех случаях). У пациенток с острым сальпингоофоритом  $I_{\max}$  превышал значения здоровых женщин уже в 3,1 раза,  $S$  - в 1,96 раза  $\text{tg } 2$  альфа - в 2,64 раза ( $p < 0,05$  во всех случаях).

Картину усиления липопероксидации дополнили данные об уровнях молекулярных продуктов ПОЛ. Так, ДК во II группе обследованных превысили соответствующие показатели I группы в 1,9 раза, ОШ - в 2,85 раза ( $p < 0,05$  в обоих случаях). Еще большими оказались отличия в III группе, где уровень ДК составил 3,86, а ОШ - 2,85 от показателей здоровых женщин.

Очевидно, что перекисный стресс развивается, как правило, в условиях антиоксидантной недостаточности. Для проверки этой гипотезы мы контролировали у наших пациенток активность двух антиокислительных ферментов, которая также оказалась в прямой зависимости от степени выраженности воспалительного процесса.

При наличии ТПБ каталаза оказалась в 1,33 раза, а СОД - в 1,28 раза ниже по сравнению со здоровыми женщинами ( $p < 0,05$  в обоих случаях). У больных с острым сальпингоофоритом изменения были более выраженными. Так, каталаза находилась на уровне в 1,68 раза, а СОД - в 1,63 раза меньше, чем у здоровых ( $p < 0,05$  в обоих случаях).

Таблица 1. Показатели ПОЛ-АОСЗ у здоровых женщин (I группа), больных с трубно-перитонеальным бесплодием (II группа) и острым сальпингоофоритом (III группа)

Исследуемый показатель	I группа (n=30)	II группа (n=30)	III группа (n=30)
$I_{\max}$ , mv/сек	1,23±0,05	2,11 ± 0,02 <sup>x y</sup>	3,86±0,09
$S$ , mv/сек	12,6±0,05	19,6±0,05 <sup>x y</sup>	24,84±0,11
$\text{tg } 2$ альфа.	0,31 ± 0,02	0,57 ± 0,02 <sup>x y</sup>	0,82 ± 0,04
ДК, ед.опт.плотн./мг ОЛ	0,22±0,03	0,42±0,03 <sup>x y</sup>	0,85±0,03
ОШ, усл.ед./мг ОЛ	14,5±0,2	26,6±0,3 <sup>x y</sup>	41,3±0,9
Каталаза, Ед./г Нв в мин	572,3±15,4	430,0±25,3 <sup>x y</sup>	340,0±16,2
СОД, Ед/г Нв в мин.	685,0±13,7	535,2± 14,3 <sup>x y</sup>	419,6± 22,6

*x* – коэффициент достоверности различий по сравнению с первой группой  
*y* - коэффициент достоверности различий по сравнению с третьей группой

В настоящее время доказано, что многие патологические процессы в женском организме тесно связаны с нарушением равновесия между ПОЛ и АОСЗ [5]. Образующиеся в процессе ПОЛ токсичные радикалы способны усиливать агрегацию тромбоцитов, способствовать нарушению состояния микроциркуляции в тканях, угнетать иммунные реакции, усугубляя течение воспалительного процесса [6 - 8]. На основании полученных нами результатов можно утверждать о прямой зависимости степени интенсификации процессов перекисного окисления липидов и ослабления антиоксидантной системы защиты и выраженности клинических проявлений воспалительного процесса в придатках матки. Данный вывод должен иметь следствием обязательное включение лечебных факторов, корригирующих липопреоксидацию, в комплексную терапию не только манифестного острого сальпингоофорита, но трубно-перитонеального бесплодия.

### Список использованной литературы

1. Коробков Д.М. Трубно-перитонеальное бесплодие у женщин репродуктивного возраста и его клинико-факторный анализ //Бюллетень науки и практики. 2016. № 12 (13). С.186-189.
2. Аврукевич Е.А. Трубно-перитонеальное бесплодие: диагностика и лечение //Смоленский медицинский альманах. 2017. № 1. С.17-20.
3. Мешкова О.А. Проблема вторичного бесплодия: распространенность и современные методы лечения / // Эндоскопическая хирургия. 2015. № 21 (4). С.69-75.
4. Яковлева Н.В. Хирургическое лечение трубного бесплодия: проблемы и решения //Вестник новых медицинских технологий. 2014. Т.21. №1. С.121-127.
5. Кузнецова И.В. Роль окислительного стресса и антиоксидантной защиты в репродукции человека //Акушерство и гинекология. 2016. № 3. С.116-121.
6. Гречканев Г.О., Мотовилова Т.М., Гаревская Ю.А., Чурикова М.С., Бойченко Т.А., Никишов Н.Н. Антиоксидантная терапия - важнейший компонент патогенетического лечения воспалительных заболеваний //Врач. - 2015. №3. С.54-59
7. Гречканев Г.О., Чурикова М.С., Чандра-Д`Мелло Р. Воздействие КВЧ-терапии на состояние перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты у пациенток с острыми воспалительными заболеваниями органов малого таза //Матер. IV Международной конференции «Человек и электромагнитные поля» - Саров, 2013. С.95-96.
8. Гречканев Г.О., Чурикова М.С. Коррекция перекисного стресса как важный элемент патогенетического лечения воспалительных заболеваний органов малого таза //Российский вестник акушера-гинеколога. 2013. №5 (том 13). С.8-11.

# ОСОБЕННОСТИ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ ПРИ СОЧЕТАННОМ ПРИМЕНЕНИИ НИЗКОЧАСТОТНОЙ ЭЛЕКТРОИМПУЛЬСНОЙ МИОСТИМУЛЯЦИИ И ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКОГО ВВЕДЕНИЯ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА ИЗ КРЕМА С ОЗОНИДАМИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

П.В. Перетягин, О.А. Гречканёва, С.П. Перетягин

*Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр, Нижний Новгород, Россия*

*Ассоциация российских озонотерапевтов, Нижний Новгород, Россия*

## **Abstract**

The paper presents the results of an experimental study of the effect of combined low-frequency electropulse effects and the introduction of the active forms of oxygen from creams containing ozonides to microcirculation. The advantages of including in the procedures of electropulse therapy of means containing active oxygen, which, with percutaneous translocation into the body, provide additional modulation of mechanisms of metabolic influence on blood supply and tissue metabolism are shown.

**Key words:** microcirculation, electromyostimulation, active forms of oxygen

В работе представлены результаты экспериментального изучения влияния сочетанных низкочастотных электроимпульсных воздействий и форетического введения активных форм кислорода из кремов, содержащих озониды, на микроциркуляцию. Показаны преимущества включения в процедуры электроимпульсной терапии средств, содержащих активный кислород, которые при чрескожной транслокации в организм обеспечивают дополнительную модуляцию механизмов метаболического влияния на кровоснабжение и тканевой обмен.

**Ключевые слова:** микроциркуляция, электромиостимуляция, активные формы кислорода

Недостаточная эффективность медикаментозной терапии, физиотерапии, физических тренировок при хронических болевых синдромах туловища и конечностей, возникающих на почве дегенеративных изменений в позвоночнике и крупных суставах, как проявлений остеохондроза, диктует совершенствование известных и разработку новых технологий в сфере немедикаментозной терапии данной патологии. Приводимые в литературе возможности электронейростимуляции в сочетании со стандартными лекарственными анальгетическими средствами не всегда оказывают действенную помощь как противоболевые факторы (Ударцев Е.Ю., 2012).

Известна саногенетическая роль озона и озонидов в восстановлении

кислородного гомеостаза при гипоксии и ишемии, а также их значение для оптимизации нарушенного кровообращения (Масленников О.В. и др., 2012).

Поэтому нами предпринята попытка сочетанного применения низкочастотных электромиостимулирующих воздействий, как средства, системно активирующего кровотоки в области поражённых суставов, а также и в самой костной ткани, с патогенетическим лечебным фактором активных форм кислорода, содержащихся в кремах с озонидами

**Целью работы** явилось исследование состояния микроциркуляции у крыс при сочетанном применении низкочастотных электроимпульсных воздействий и форетического введения активных форм кислорода в эксперименте

#### **Материал и методы исследования.**

Экспериментальные исследования выполнены на 40 белых крысах линии Вистар весом  $250 \pm 20$  г. Методика заключалась в проведении стандартной процедуры ТЕНС-терапии (в контроле - 10 крыс) с одновременным использованием во время её осуществления крем-гелей, содержащих разное количество активных форм кислорода (опыт -1: 3% крем с PV = 500 мг O<sub>2</sub> /кг, опыт-2: 10% крем с PV = 2000 мг O<sub>2</sub>/кг; 30% крем с PV = 6000 мг O<sub>2</sub>/кг Декларация о соответствии, Регистр.N: ЕАЭС N RU Д-RU/ GR08.D.06004 от 23.05.2017) на депилированном участке кожи спины экспериментального животного. После премедикации и внутримышечного наркоза (Ксила + Золетил) животных фиксировали на операционном столе, участок кожи спины депилировали и наносили равные количества крема с помощью шприца, после чего на спине фиксировали электроды низкочастотного электроимпульсного массажёра модели МН 8002 Комбо (Сертификат соотв. N TC RU C-TW.АД35.В.00580 Серия RU 0577587). Процедура выполнялась в течение 30 минут по схемам, используемым в клинических условиях. Параметры электромиостимуляции, задаваемые на аппарате: S, частота 50-75 гц,; N, частота 50-75 гц, M, частота 15-25 гц и 2-4 гц; B, частота 15-25 гц; SD, частота 15-25 гц; MR, частота 15-25 гц.

Во избежание эффекта «привыкания» - адаптации рецепторных полей нервно-мышечного контура через каждые 5 минут, последовательно, переходили на новый режим работы аппарата. До и после, а также через 60 минут после выполнения процедуры проводились функциональные исследования микроциркуляции методом лазерной доплеровской флоуметрии на аппарате ЛАКК-М.

Обработка полученных данных проводилась с использованием программ Microsoft Excel и Statistica 6.0. Сравнения средних производили по t-критерию Стьюдента. Различия считали достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ .

#### **Результаты исследования**

Проведённое исследование состояния микроциркуляции у подопытных животных позволило установить основную направленность ответной реакции периферического кровообращения, его регуляторных факторов на сочетанное влияние электроимпульсных воздействий и форетически введённых активных форм кислорода. Как видно из представленных данных, выполнение стандартной процедуры ЭМС/ТЕНС-терапии в контрольной серии у экспериментальных

животных сопровождалось уменьшением объёмного микрокровотока до 81% от исходного уровня ( $P<0,05$ ) (табл.1, рис. 1, 2, 3).

Таблица 1. Показатели микроциркуляции при проведении процедур электромиостимуляции с форетическим введением АФК в эксперименте

Группа	ПМ	Э	Н	М	Д	С	ПШ
Исходно, n=40	9,2±0,87	13,5±0,84	10,3±0,9	11,0±0,9	12,6±1,1	5,0±0,45	1,09±0,09
ЭМС контроль, после проц., n=10	7,43±0,67*	9,79±0,9*	9,21±0,8*	19,3±1,7*	17,93±1,6*	5,7±0,5*	0,54±0,05*
ЭМС контроль, ч/з 60 мин	4,95±0,45*	11,5±0,9*	12,8±1,2*	19,1±1,7*	13,12±1,2	5,7±0,5*	0,73±0,06*
ЭМС +3% Оз, после проц., n=10	6,28±0,57*	12,3±1,1	11,6±1,05	21,2±1,93*	17,5±1,6*	7,2±0,6*	0,75±0,07*
ЭМС+3%, ч/з 60 мин	5,0±0,45*	11,2±0,9*	12,2±1,1*	17,5±1,6*	8,3±0,75*	6,45±0,6*	0,8±0,07*
ЭМС+10 %Оз, после проц., n=10	5,17±0,47*	8,0±0,7*	8,6±0,8*	15,1±1,4*	16,3±1,5*	6,8±0,6*	0,8±0,07*
ЭМС+10 %Оз, ч/з 60 мин	5,5±0,5*	9,6±0,8*	11,1±0,9	22,7±2,1*	17,1±1,5*	7,5±0,68*	0,5±0,04*
ЭМ + 30% Оз, после проц., n=10	9,9±0,81	8,4±0,7*	7,4±0,6*	11,0±1,0	10,7±0,9*	5,7±0,5*	0,9±0,08*
ЭМС+30 % Оз, ч/з 60 мин	8,8±0,8	12,3±1,1	13,3±1,2*	15,85±1,4*	7,7±0,7*	5,9±0,5*	0,9±0,08*

Примечание: \*-достоверность различий опытных данных по отношению к исходным значениям, ЭМС – низкочастотный электроимпульсный ток (электромиостимуляция).

Обеспечение доставки крови на периферию поддерживалось снижением явлений шунтирования крови и активизацией миогенного на 175% ( $P<0,05$ ), дыхательного на 142% ( $P<0,05$ ) и сердечного на 114% ( $P\leq 0,05$ ) факторов регуляции (табл.1, рис.1, 2, 3).

Через 60 минут после окончания процедуры уровень микроциркуляции продолжал снижаться до 54% от исходного ( $P<0,05$ ) с более эффективным

подключением активных факторов регуляции микроциркуляции – Н (нейрогенный) 124% (P<0,05).

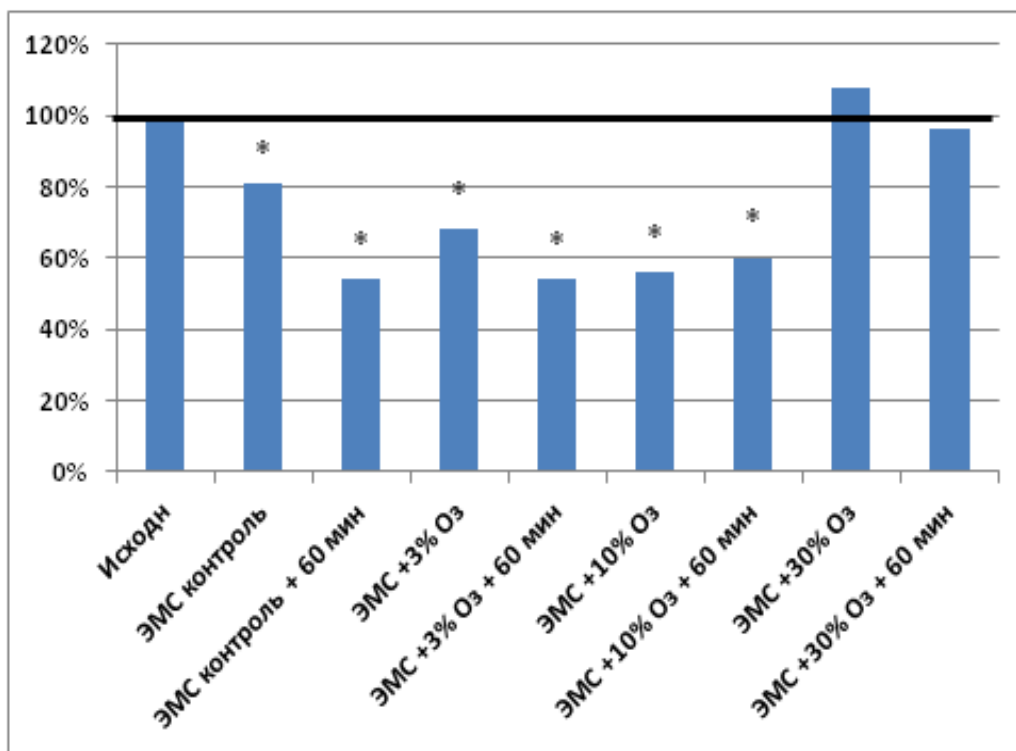


Рис. 1. Показатель микроциркуляции у крыс при проведении процедур электромиостимуляции с форетическим введением активных форм кислорода из крем-геля с озонидами

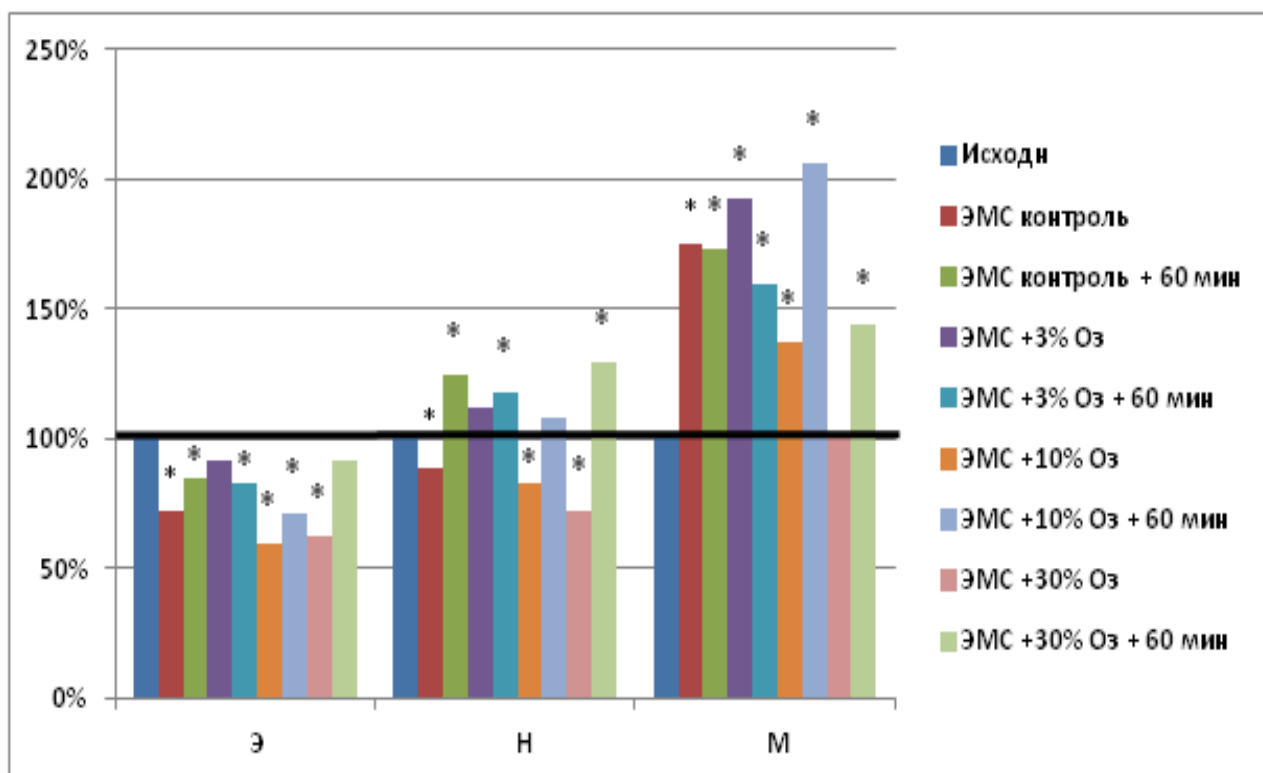


Рис 2. Факторы активной регуляции микроциркуляции: Э-эндотелиальные колебания, Н-нейрогенные колебания, М-миогенные колебания

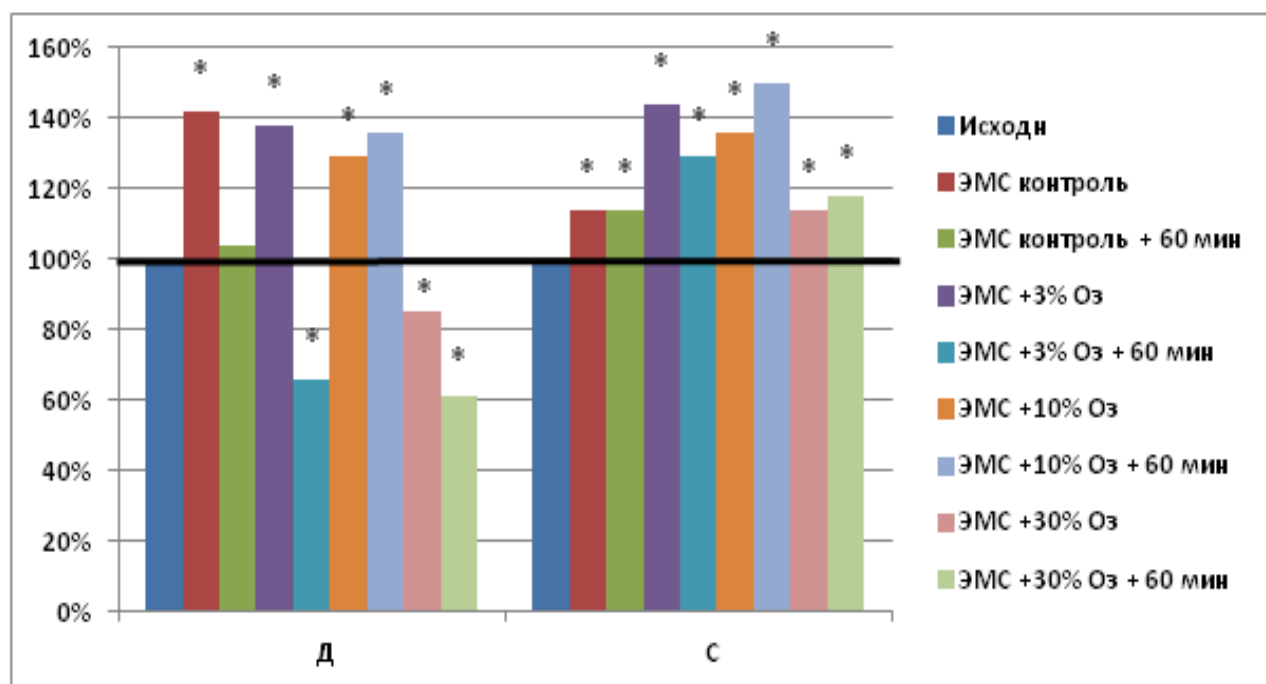


Рис 3. Факторы пассивной регуляции микроциркуляции: Д - дыхательная волна (амплитуда дыхательных ритмов), С - пульсовая волна (амплитуда сердечных ритмов)

Применение в выполняемой процедуре ТЕНС-терапии у экспериментальных животных крема с разным содержанием активного кислорода (3%, 10% и 30%) сопровождалось неодинаковой ответной реакцией со стороны сосудов микроциркуляторного русла. Так, динамика ПМ при использовании кремов с 3% и 10% содержанием активного кислорода, в целом, повторяла картину, отмеченную в контрольной серии опытов: после выполнения процедуры снижение объемного микрокровотока было даже в большей степени выражено, чем в контрольной серии, а участие регулирующих микрокровоток факторов, при этом, было задействовано в большей степени. Особенно заметно это было на фоне применения ТЕНС-стимуляции в сочетании с кремом-гелем с 3% содержанием активных форм кислорода. Через 60 минут после окончания процедуры микрокровоток в обеих сериях экспериментов оставался сниженным с повышением участия в нём активных и пассивных факторов регуляции (рис 1,2,3). Использование крема с большим содержанием активных форм кислорода (30%, PV-6000), во время выполнения процедур ЭМС/ТЕНС-терапии, сопровождалось поддержанием на исходном уровне показателя микроциркуляции, как сразу после окончания процедуры, так и спустя 60 минут после её окончания ( $P < 0,05$ ) (табл 1, рис 1)

Амплитудно-частотный анализ колебаний кровотока при выполнении обычных низкочастотных электромиостимулирующих воздействий, а также в сочетании с форетическим введением активных форм кислорода, выявил ведущий фактор регуляции тонуса сосудов – гистомеханический механизм регуляции, связанный с активной миогенной реакцией в ответ на растяжение гладкомышечных клеток. Миогенный механизм контроля тонуса микроциркуляторного русла оказался преобладающим во всех сериях

экспериментов (табл. 1, рис. 2), при этом использование кремов с 30% содержанием активных форм кислорода также усиливало роль повышения эндотелиальной активности и нейрогенного фактора регуляции, по сравнению с другими сериями экспериментов, что играет решающее значение в поддержании пиального кровообращения (рис.3) и обеспечении питания функционального элемента органов (Крупаткин А.И., Сидоров В.В., 2005).

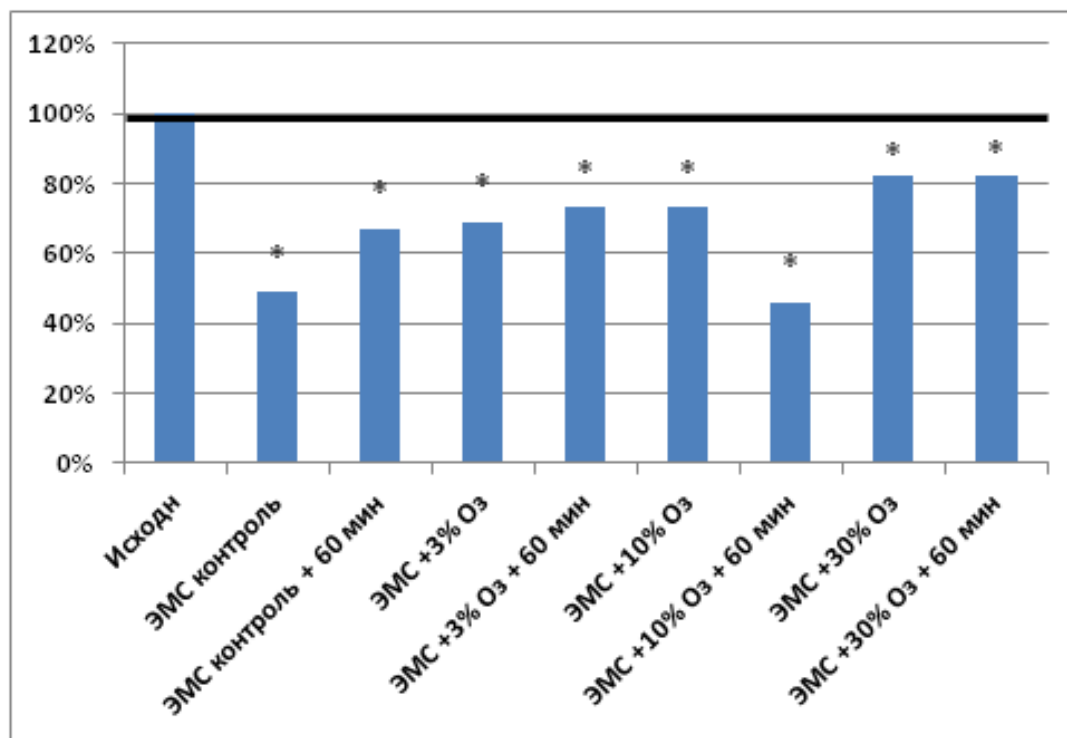


Рис 3. Показатель шунтирования (ПШ) , показывающий преобладание нутритивного кровотока при процедурах электричестимуляций и форетического введения активных форм кислорода

Результирующая величина сосудистого тонуса, который поддерживал максимальный объёмный микрокровоток была отмечена на фоне сочетанного применения электромиостимуляций и форетического введения крема с 30% содержанием озонидов. Это свидетельствовало о большей сбалансированности регуляторных систем микроциркуляции, которая, на фоне электромиостимулирующих воздействий, обеспечивалась многофакторным системным действием активных форм кислорода, модулирующего метаболическое влияние на кровоснабжение и тканевой метаболизм.

#### Список литературы

1. Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови / Ред. А.И. Крупаткина, В.В. Сидорова, изд. «Медицина», М., 2005.
2. Масленников О.В., Конторщикова К.Н., Шахов Б.Е. Руководство по озонотерапии. Н.Новгород, 2012. 332 с.
3. Ударцев Е.Ю. Восстановительное лечение посттравматического остеоартроза крупных суставов нижних конечностей. Автореф. дис. докт. мед. наук. 2012.



## ВЛИЯНИЕ НИЗКОЧАСТОТНОГО ЭЛЕКТРОИМПУЛЬСНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ И БИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ КРЕМА, СОДЕРЖАЩЕГО АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА

С.П. Перетягин, А.С. Гордцов, А.Г. Соловьёва, О.А. Гречканёва,

С.А. Жильцов, С.А. Соколов, П.В. Перетягин, Н.В. Диденко

*Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр, Нижний Новгород, Россия*

*Ассоциация российских озонотерапевтов, Нижний Новгород, Россия*

### **Abstract**

The article presents the results of experimental researches on studying of influence of low-frequency electric pulse effects on the cream containing active oxygen species. Ninety bench experiments were made with the influence of an electric field generated in the interelectrode space of a low-frequency pulse current to the samples of cream containing different amount of active oxygen (ozonides). Electrical characteristics current corresponded to the standard treatment used in physiotherapy practice EMC/TENS. The absence of negative influence of impulse electric influences on the chemical structure of substrates of the cream was installed. Shown changes in metabolic parameters of cream, testifying the increase of its biological activity.

**Key words:** low frequency electric pulse stimulation, biological activity, ozonide.

В статье представлены результаты экспериментальных исследований по изучению влияния низкочастотных электроимпульсных воздействий на крем, содержащий активные формы кислорода. Выполнено 90 стендовых экспериментов с воздействием электрического поля, создаваемого в межэлектродном пространстве низкочастотным импульсным током на образцы крема, содержащего различные количества активного кислорода (озонидов). Электрические характеристики тока соответствовали стандартным режимам, используемым в физиотерапевтической практике ЭМС/ТЕНС-терапии. Установлено отсутствие отрицательного влияния импульсных электрических воздействий на химические структуры субстратов крема. При этом показаны изменения метаболических параметров крема, свидетельствующие о повышении его биологической активности.

**Ключевые слова:** низкочастотная электроимпульсная стимуляция, биологическая активность, озониды.

Для лечения болевых синдромов в последние годы достаточно широко используется динамическая электронейростимуляция, которая обладает быстрым анальгетическим, противовоспалительным, противоотечным, спазмолитическим

эффектами для скелетных мышц (Лавруков А.М., 2005; Григорьева Г.С, 2003; Костарева Е.В., 2004; Мейзеров Е.Е., с соавт., 2005; Савко И.Д., 2004; Cheing G.L.C. et al., 2004; Khadilkar A., 2005; Туков А.А., 2006; Кукушкин М.Л., 2004, 2006; Черемхин К.Ю., Власов А.А., 2008). Однако ряд авторов (Richardson R.R. et al., 1980; Bertalanffy A. et al., 2005; Khadilkar A. et al., 2005) считают, что эффективность чрезкожной электронейростимуляции, как изолированного метода воздействия, при лечении хронической боли в спине ограничена, противоречива и необходимо дальнейшее изучение данного метода лечения. (Туков А.А., 2006, 2007). В этой связи перспективны исследования возможностей сочетанного применения физических факторов и лекарственной терапии.

Фармакологический арсенал средств для купирования болевого и миофасциального синдромов в стадии обострений дегенеративно-дистрофических заболеваний позвоночника и крупных суставов достаточно широк и включает блокады с использованием стероидных и нестероидных противовоспалительных средств, миорелаксантов, антигистаминных препаратов, лидазы, средств метаболической терапии. Появившиеся в последнее время на рынке современных медицинских услуг лечебные технологии с использованием озона и средств (озонированные масла и крема), содержащих его производные - активные формы кислорода (озониды), значительно расширяют диапазон возможностей сочетанного применения физиотерапевтических методов и средств озонотерапии в клинической практике (Bitkina O., Peretyagin S., Soloveva A. et al., 2015)

**Целью работы** явилось исследование влияния низкочастотных электроимпульсных воздействий на биологические свойства кремов, содержащих активные формы кислорода (АФК).

#### **Материал и методы исследования**

При выполнении экспериментальных исследований (90) в условиях *in vitro* было изучено влияние электрического поля, создаваемого при работе низкочастотного электроимпульсного массажёра (ТС RUC-TW АД35.8.00580 Серия RU 0577587), на физико-химические и биологические свойства крем-геля, содержащего озониды (Регистр. N: ЕАЭС N RU Д-РУ/ GR08.D.06004 от 23.05.2017) и расположенного в межэлектродном пространстве аппарата.

Эксперименты по изучению влияния электрического поля на биологическую активность крема были проведены в стандартных стендовых условиях. Опытный образец крема размещался в межэлектродном пространстве (Рис. 1).

В модельных условиях в эксперименте *in vitro* образцы кремов с различным содержанием активного кислорода (3%, 5%, 10% и 30%) подвергали воздействию низкочастотного импульсного тока по методике ТЕНС-терапии в межэлектродном пространстве электроимпульсного массажёра. Длительность электроимпульсных воздействий составила 30 минут.

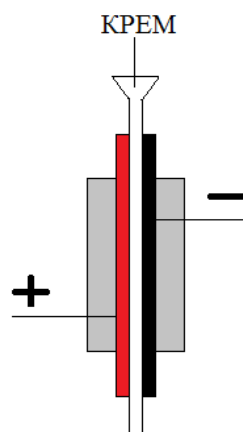


Рис.1. Установка для воздействия электрическим полем.

В образцах кремов исследовали перекисное окисление липидов (ПОЛ) и общую антиоксидантную активность (АОА) биохемилюминисцентным методом (Кузьмина и др., 1983) на аппарате БХЛ-07 («Медозонс», Н.Новгород); окислительно-восстановительный потенциал (ОВП) и реакцию среды (рН) измеряли на анализаторе жидкости InoLab 7110 (Германия) до и после воздействий на крем электрическим полем.

Полученные данные были обработаны статистически, с помощью программ Microsoft Excel и Statistica 6.0. Парные внутригрупповые сравнения средних производили по t-критерию Стьюдента. Различия считали достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ .

### Результаты исследований

В ходе предварительных химических исследований инфракрасных спектров кремов, содержащих различное количество озонидов до и после воздействия на крем короткочастотного электроимпульсного воздействия в электрическом поле было установлено, что все полосы поглощения, принадлежащие изучаемым объектам, остались без изменения, несмотря на разное содержание активного кислорода (3%, 5%, 10% и 30%), и каких-либо новых, дополнительных органических продуктов в самом креме не установлено (данные, полученные в совместных исследованиях на кафедре химии НижГМА; зав. каф. - проф. А.С. Гордецов).

Экспериментальные исследования показали, что крема, приготовленные на озонированном оливковом масле, содержащие разное количество активного кислорода с пероксидными числами, различались и по ряду физико-химических и биологических параметров.

Совершенно отчетливо прослеживалась тенденция повышения прооксидантных свойств всех исследуемых кремов до ЭМС от уровня контрольных значений в физиологическом растворе: ПОЛ увеличилось в креме с АФК 3% в 6,8 раза, с АФК 5% в 6,5 раза, с АФК 10% в 5,8 раза, с АФК 30% в 6,6 раза, а также их антиоксидантных резервов по мере увеличения содержания активного кислорода (АОА у крема с 3% - в 7,6 раз  $P < 0,05$ , АОА у крема с 10% - в 7,7 раз  $P < 0,05$ ; АОА у крема с 30% - в 9,6 раз  $P < 0,05$ ). Одновременно с этим

было установлено достоверное снижение реакции субстратной среды (рН;  $P < 0,05$ ) и её окислительно-восстановительного потенциала.

Таблица 1. Физико-химические и метаболические параметры кремов с озонидами до и после низкочастотных электроимпульсных воздействий

Условия эксперимента In vitro Крем+ ЭМС/ТЕНС	ПОЛ	АОА	ОВП	рН
Контроль Физ.раствор	0,22±0,02	0,179±0,02	151,3±13,7	5,32±0,48
Крем с3% Оз N=10	1,5±0,14*	1,36±0,12*	140,6±12,8	4,91±0,47
Крем с3%Оз+ЭМС N=10	0.82±0,07* **	2,02±0,18*, **	123,1±11,1* , **	4,90±0,44
Крем с 5% Оз N=10	1,4±0,13*	0,98±0,08*	102,3±9,3*	4,67±0,42
Крем с5%Оз+ЭМС N=10	1,10±0,1*, **	1,67±0,15*, **	106,3±9,7*, **	4,69±0,43
Крем с10%Оз N=10	1,3±0,12*	1,38±0,12*	67,7±6,1*	4,44±0,4
Крем с10%Оз+ЭМС N=10	1,38±0,12*	1,44±0,13*	51,8±4,7*, **	4,49±0,41
Крем с 30%Оз N=10	1,45±0,13*	1,71±0,15*	116±10,6*	4,24±0,38*
Крем с 30%Оз+ЭМС N=10	1,73±0,15*, **	2,25±0,2*, **	130,7±11,9* , **	4.21±0,38*

Примечание: \*-достоверность различий опытных данных по отношению к контролю(физ.раствор), \*\*-достоверность различий между опытными сериями (до и после электроимпульсного воздействия), ЭМС – низкочастотный электроимпульсный ток (электромиостимуляция)

Обработка кремов низкочастотными электроимпульсными воздействиями в течение 30 минут сопровождалась изменением биологической активности кислородсодержащих субстратов кремов. Прежде всего было отмечено, что в кремах с относительно более низким содержанием активного кислорода (3% и 5%) после воздействия электрическим полем достоверно снижалась интенсивность ПОЛ соответственно в 1,8 и 1,3 раза по сравнению с исходным состоянием ( $P_1$  и  $P_2 < 0,05$ ) (рис 2).

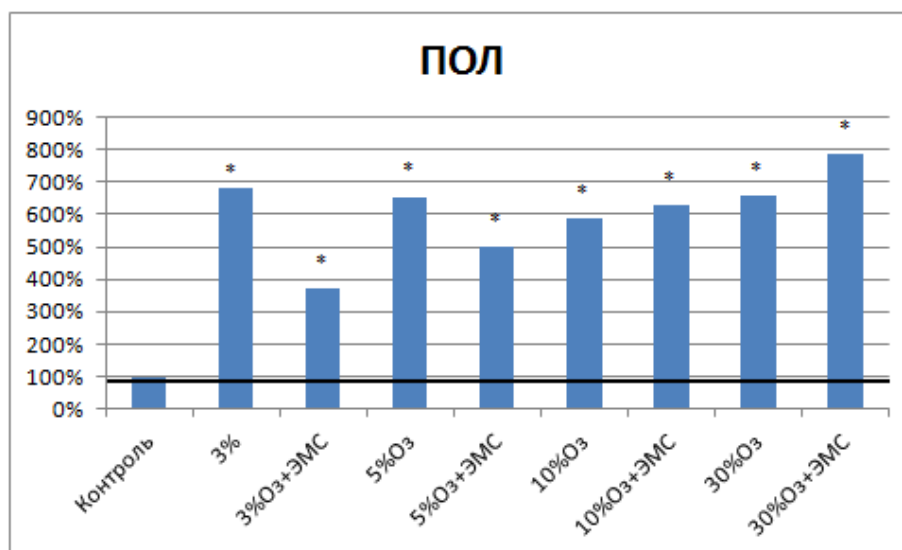


Рис. 2. Влияние электроимпульсных воздействий на состояние прооксидантной активности кремов с разным содержанием активного кислорода

Такое уменьшение активности ПОЛ сопровождалось более значимым увеличением антиоксидантного резерва, АОА соответственно возростала в 1,5 раза ( $P < 0,05$ ) и 1,7 раза ( $P < 0,05$ ) (рис. 3).

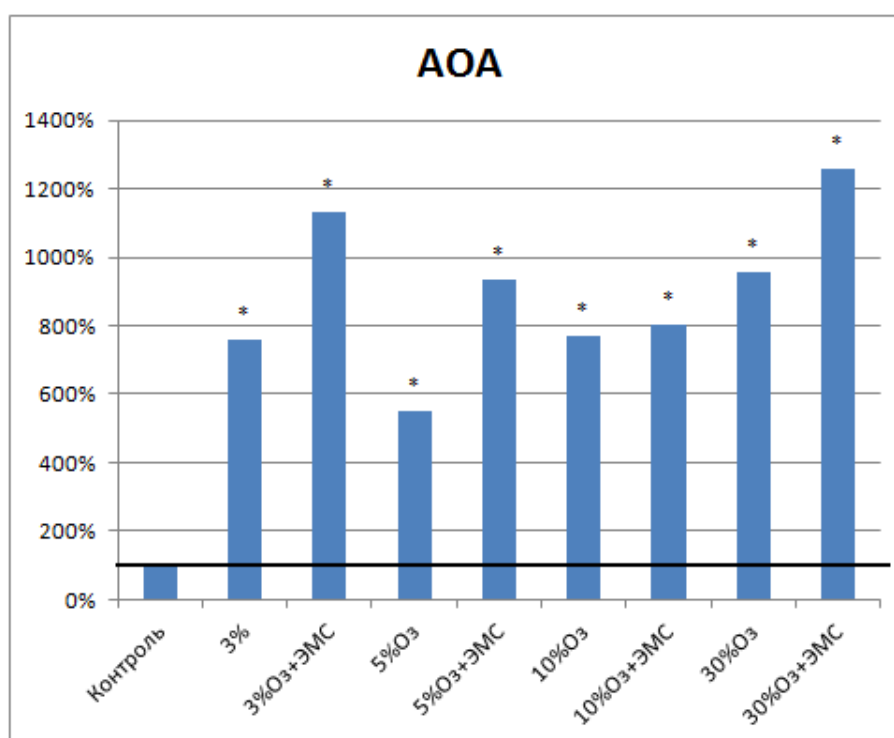


Рис. 3. Влияние электроимпульсных воздействий на состояние антиоксидантной активности кремов с разным содержанием кислорода

В кремах с АФК 10% и 30%, после воздействий низкочастотным импульсным током проявилась тенденция к росту интенсивности ПОЛ в 1,1 раза и АОА в 1,05 раза соответственно. А в креме с 30% содержанием активного кислорода эта тенденция превратилась в закономерность - интенсивность ПОЛ была достоверно на более высоком уровне, в 1,2 раза, по сравнению с исходным

состоянием ( $P < 0,05$ ). При этом антиоксидантный потенциал также оказался возросшим в 1,3 раза от исходного ( $P < 0,05$ ). Уровень ОВП после обработки кремов с разным содержанием активного кислорода также оказался бóльшим в креме с 30% содержанием АФК. При этом не было выявлено изменений кислотной реакции субстратной среды кремов.

### Обсуждение результатов

Полученные результаты исследований состояния физико-химических и метаболических показателей кремов, содержащих различное количество активного кислорода, свидетельствовали о том, что воздействие на такие биологические субстраты низкочастотным электроимпульсным током приводило к неоднозначным изменениям их функционально-биохимического статуса. В кремах с исходно более низким содержанием активных форм кислорода (3% и 5%) значимо возрастала их антиоксидантная активность, что являлось причиной снижения прооксидантного потенциала крема и его уровня ПОЛ в 1,8 раза и 1,3 раза за счёт «гашения» их биорадикальной активности.

Обработка электрическим полем кремов с исходно большим содержанием активных форм кислорода сопровождалась более значимым возрастанием в обрабатываемом субстрате уровня биорадикальных систем, содержащих активные формы кислорода, что приводило к заметному увеличению уровня ПОЛ, особенно в креме с 30% содержанием активного кислорода. При этом было отмечено одновременное адекватное увеличение интенсивности антиоксидантных резервов биологической системы в 1,3 раза ( $P < 0,05$ ) и окислительно-восстановительного потенциала в креме с 30% АФК.

### Список литературы

1. Григорьева С.Г. Применение ДЭНС-терапии в комплексном лечении заболеваний опорно-двигательного аппарата // Медицинский Вестник. 2003. Т. I, Вып. III. [www.diadens.ru/article1.html](http://www.diadens.ru/article1.html).
2. Костарева Е.В. Опыт применения динамической электронейростимуляции при лечении сколиоза I-II степени у детей. Динамическая электронейростимулирующая терапия. Эволюция продолжается. 2004 [www.netmarketing.ru/medicine/article/a050.php](http://www.netmarketing.ru/medicine/article/a050.php).
3. Кузьмина Е.И., Нелюбин А.С., Щенникова М.К. Применение индуцированной хемилюминесценции для оценок свободнорадикальных реакций в биологических субстратах // Биохимия и биофизика микроорганизмов. – Горький. 1983. – С. 41-48.
4. Кукушкин М.Л., Хитров Н.К. Общая патология боли. М.: Медицина, 2004.-144 с
5. Кукушкин М.Л., Мейзеров Е.Е., Графова В.Н., Смирнова В.С., Гуров А.А., Чернышов В.В. Исследование анальгетического эффекта ДЭНС с частотой 10 и 77 Гц // Рефлексотерапия. 2006. №2. С. 19-22.
6. Лавруков А.М., Чернышев В.В., Лаврукова Е.А. ДЭНС в лечении различных синдромов, сопровождающих повреждения и заболевания позвоночника // Рефлексотерапия. 2005. №1. С. 53-55.

7. Мейзеров Е.Е. Анализ противоболевого действия чрескожной электронейростимуляции. // Актуальные вопросы рефлексотерапии / Тр. НИИ ТМЛ МЗ РФ. Москва. 1990. С. 9-14.
8. Мейзеров Е.Е., Черныш И.М., Дубова М.Н. Динамическая электронейростимуляция при обезболивании и лечении функциональных расстройств // Анестезиология и реаниматология. 2002. №4. С. 31-34.
9. Мейзеров Е.Е., Адашинская Г.А., Чернышев В.В., Ревякин А.Ю. Туков А.А. ДЭНС при болевых синдромах // Рефлексотерапия. 2005. №1. С. 32-34.
10. Савко И.Д. Опыт применения ДЭНС-терапии в спортивной практике при травмах опорно-двигательной системы. "Динамическая электронейростимулирующая терапия. Эволюция продолжается" 2004, //www.netmarketing.ru/medicine/article/a050.php.
11. Туков А.А., Королева М.В., Мейзеров Е.Е. Использование рефлексодиагностики аппаратом "ДиаДЭНС" при дорсопатиях // Мат. Междунар. конгресса "Рефлексотерапия и мануальная терапия в XXI веке". М., 2006. С. 362-363.
12. Туков А.А., Королева М.В., Мейзеров Е.Е. Сравнительная оценка лечения боли при протрузиях и межпозвоноковых грыжах поясничного отдела позвоночника // Мат. IV Междунар. конгресса по восстановительной медицине и реабилитации. Москва. 2007. С. 141.
13. Черемхин К.Ю., Власов, А.А., Губернаторова Е.В., Умникова М.В. Возможности применения динамической электронейростимуляции в восстановительной медицине // Вестник восстановительной медицины. 2008. №2. С. 17-19.
14. Bertalanffy A., Kober A., Bertalanffy P. et al. Transcutaneous electrical nerve stimulation reduces acute low back pain during emergency transport // Acad. Emerg. Med. 2005. Vol. 12, №7. P.607-611.
15. Bitkina O., Peretyagin S., Soloveva A., Grechkaneva O., Martusevich A., Bugrova M., Peretyagin P., Prodanets N. First experience of laboratory control of ozonids-containing cosmetic gels action // International meeting of the Madrid declaration on ozone therapy. Madrid, Spain. 2015.
16. Bitkina O.A., Peretyagin S.P., Soloveva A.G., Grechkaneva O.A., Martusevich A.K., Bugrova M.L., Peretyagin P.V., Prodanets N.N. Local and systemic actions of ozonids contained cosmetic gels on organism // Book of abstracts of 22nd World Congress & Exhibition "Ozone and Advanced Oxidation. Leading-edge science and technologies". Barcelona, Spain. 2015. P. 36.
17. Cheing G.L, Hui-Chan C.W. Transcutaneous electrical nerve stimulation: nonparallel antinociceptive effects on chronic clinical pain and acute experimental pain // Arch. Phys. Med. Rehabil. 1999, V. 80, 3, P. 305-312.
18. Cheing, G. L., Hui-Chan C. W. Would the addition of TENS to exercise training produce better physical performance outcomes in people with knee osteoarthritis than either intervention alone? // Clin. Rehabil. 2004. V. 18(5). P. 48749.

19. Khadilkar A., Milne S., Brosseau L. et al. Transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) for chronic low-back pain // Cochrane Database Syst. Rev. 2005. Vol. 20, № 3, P. 300-308
20. Richardson R.R., Meyer P.R, Cerullo L.J. Neurostimulation in the modulation of intractable paraplegic and traumatic neuroma pains // Pain. 1980. V. 8 (1). P. 75-84.



## ИЗМЕНЕНИЯ ПАРАМЕТРОВ КИСЛОРОДНОГО ГОМЕОСТАЗА КРОВИ ПОСЛЕ СОЧЕТАННОГО ЭЛЕКТРОИМПУЛЬСНОГО ЧРЕСКОЖНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ С ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКИМ ВВЕДЕНИЕМ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

С.П. Перетягин, А.Г. Соловьёва, С.А. Соколов, С. А. Жильцов, О.А. Гречканёва,  
П.В. Перетягин, Н.В. Диденко

*Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр, Нижний Новгород, Россия*

*Ассоциация российских озонотерапевтов, Нижний Новгород, Россия*

### **Abstract**

The article presents the results of experimental studies on the combined effect of low-frequency electric pulse impacts and cream containing the active forms of oxygen on the organism of experimental animals. Under our supervision there were 50 rats in General anesthesia the procedure is performed electric pulse impact on the skin of the back with the simultaneous electrophoretic transcutaneous introduction reactive oxygen species (ozonides) of the interelectrode space of a low frequency electric pulse massager. The comparison group consisted of animals that carried out the electrical stimulation based on the standard procedure EMS. Shows the advantages of combined pharmacological and physiotherapeutic impact of ozonides on the oxygen homeostasis of the body.

**Key words:** low frequency electric pulse stimulation, ozonide, aerobic metabolism

В статье представлены результаты экспериментальных исследований по сочетанному влиянию низкочастотных электроимпульсных воздействий и крема, содержащего активные формы кислорода на организм подопытных животных. Под нашим наблюдением находились 50 крыс, которым в условиях общей анестезии выполнялась процедура электроимпульсного воздействия на кожные покровы спины с одновременным электрофоретическим транскутаным введением активных форм кислорода (озонидов) из межэлектродного пространства низкочастотного электроимпульсного массажёра. Группу сравнения составили животные, которым выполнялась обычная электростимуляция по стандартной процедуре ЭМС/TENS-терапии. Показаны преимущества сочетанного физиотерапевтического и фармакологического воздействия озонидов на кислородный гомеостаз организма.

**Ключевые слова:** низкочастотная электроимпульсная стимуляция, озониды, аэробный метаболизм

Современные тенденции развития восстановительной медицины основаны

на персонализации программ применения нелекарственных технологий в процессе медицинской реабилитации и профилактики обострений хронических заболеваний (Бобровницкий И.П. с соавт., 2011, 2012). Импульсная электротерапия в виде чрескожной электронейростимуляции давно применяется при различных видах острых и хронических болевых синдромов, позволяя снижать потребность, а иногда и полностью отказаться от приёма анальгетиков (Василенко А.М., 2006; Даминов Р.Г., Даминов М.Р., 2009; Nizard et al., 2012; Wright, 2012). Под электронейростимуляцией понимают применение электрического тока с целью возбуждения или усиления деятельности двигательных нервов и мышц. Для этого используют постоянные импульсные токи с различной формой импульсов. Электрический ток, изменяя концентрацию тканевых ионов у клеточной оболочки и её проницаемость, действует по принципу естественных биотоков. Импульсные электрические токи, вызывая двигательное возбуждение и сокращение мышц, одновременно рефлекторно усиливают кровоснабжение и весь комплекс обменно-трофических процессов, направленных на энергетическое обеспечение работающих мышц. Одновременно повышается активность регулирующих систем, в том числе клеток коры большого мозга. Наряду с улучшением кровообращения стимулируемых мышц, активируются пластические процессы, синтез нуклеиновых кислот, в том числе РНК (Боголюбов В.М., Ясногородский В.Г., 2007).

В клинической физиотерапевтической практике известны также лечебные возможности лекарственного электрофореза, являющего собой сочетанное воздействие на организм постоянного электрического тока и вводимого с его помощью лекарственного вещества. При использовании данного метода к перечисленным выше механизмам биологического действия электрического тока добавляются лечебные эффекты вводимого им лекарства. Они определяются форетической подвижностью вещества, способом его введения, его количеством, поступающим в организм, а также областью его введения (Боголюбов В.М., Пономаренко Г.Н. 1998).

Одним из ведущих патогенетических факторов в возникновении болевой симптоматики, требующим быстрого применения лекарственной и немедикаментозной терапии для её купирования, является снижение уровня кислородного дыхания тканей. Нарушение окислительных процессов в тканях или прекращение доступа крови (основного переносчика кислорода к тканям) приводит к возникновению боли (Судаков К.В. и др., 2009).

В этой связи может оказаться перспективным использование в клинической физиотерапевтической практике при технологиях электронейростимуляции (ЭМС) и на основании электрофоретических возможностей низкочастотного постоянного импульсного тока средств, содержащих активные формы кислорода. К таким средствам относится медицинский озон, мази и крема, содержащие озониды (Vitkina O.A. et al, 2015; Гречканёва О.А., Биткина О.А., Богомолова Е.Б. и др., 2017).

**Целью работы** явилось обоснование сочетанного применения низкочастотного электроимпульсного воздействия и одновременного электрофоретического транскутанного введения крема с активными формами кислорода (АФК) -

озонидами во время выполнения процедур ЭМС/ TENS-терапии в эксперименте на животных.

### Материал и методы исследования

Работа проведена в отделении экспериментальной медицины с вивариумом ФГБУ «Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр» Минздрава России и на кафедре неорганической химии НижГМА.

Исследования выполнялись согласно «Принципам надлежащей лабораторной практики» (ГОСТ 33044-2014).

Эксперимент выполнен на 50 белых крысах линии Вистар весом 250 г. Животных разделили на 5 групп: 1 группа – интактные здоровые крысы ( $n=10$ ); 2 группа – контрольная ( $n=10$ ) – животные, которым проводили стандартную процедуру TENS-терапии; 3, 4, 5 группы – опытные (по  $n=10$  в каждой) – крысы, которые получали TENS-терапию с одновременным использованием во время ее осуществления крем-гелей, содержащих 3%, 10% или 30% АФК соответственно.

Процедуру TENS-терапии с применением крем-гелей осуществляли следующим образом: после премедикации и внутримышечного наркоза (Ксила + Золетил) животных фиксировали на операционном столе, участок кожи спины депилировали и наносили на него равные количества крема с помощью шприца, затем крем равномерно распределяли, после чего на него фиксировали электроды низкочастотного электроимпульсного массажёра модели МН 8002 Комбо. Процедура выполнялась в течение 30 минут. Параметры, задаваемые на аппарате: S, частота 50-75 Гц; N, частота 50-75 Гц; M, частота 15-25 Гц; B, частота 2-4 Гц; SD, частота 15-25 Гц; MR, частота 15-25 Гц.

Во избежание эффекта «привыкания» адаптации рецепторных полей нервно-мышечного контура через каждые 5 минут последовательно переходили на новый режим работы аппарата. Животных выводили из эксперимента под общей анестезией декапитацией через 1 час после окончания процедуры с забором крови на биохимические исследования.

В плазме крови и эритроцитах изучали активность процессов свободно-радикального окисления (СРО) с помощью метода индуцированной биохемиллюминесценции (Кузьмина и др., 1983) на БХЛ-06 (Н. Новгород). Оценивали следующие параметры хемиллюминограммы:  $tg2\alpha$  – показатель, характеризующий скорость спада процессов СРО в плазме и свидетельствующий об общей антиоксидантной активности (АОА), S – светосумма хемиллюминесценции за 30 сек. – отражает способность биообъекта к СРО. Содержание малонового диальдегида (МДА) определяли в плазме и эритроцитах по Uchiyama M. и Michara M. (1978). Концентрацию глюкозы и лактата измеряли на приборе Super GL ambulance (Германия) в плазме крови. В гемолизате отмытых эритроцитов определяли активность супероксиддисмутазы (СОД) (Сирота Т.В., 1999), лактатдегидрогеназы в прямой (ЛДГпр) и обратной реакции (ЛДГобр) (Кочетов Г.А., 1989). Газы крови и кислотно-щелочное состояние определяли с помощью анализатора ABL-77 series/

Результаты обрабатывали с помощью Statistica 6.0. Различия между группами определяли с помощью t-критерия Стьюдента. Достоверными считались различия при  $p<0,05$ .

### Результаты исследования

Результаты исследования биохимических показателей кислородного гомеостаза после процедур сочетанного применения электроимпульсного воздействия и «электрофоретического» введения средства, содержащего активные формы кислорода свидетельствовали о значимом стимулирующем влиянии на кислородный гомеостаз такого совместного воздействия (табл. 1).

Таблица 1 Изменения метаболических параметров крови крыс при процедуре ОЗОТЕНС-терапии

Показатель	Интактные крысы n=10	ЭМС/TENS (контроль) n=10	Крем с3%Оз + ЭМС n=10	Крем с10%Оз+ ЭМС n=10	Крем с30%Оз+ ЭМС n=10
ПОЛ	11,96±0,9	11,94±1,1	12,36±1,12	12,69±1,15	12,99±1,2
АОА	0,704±0,06	0,740±0,067	0,741±0,07	0,744±0,07	0,78±0,07
ПРЭ	12,19±1,1	9,8±0,89*	8,7±0,79*	7,2±0,65*	8,06±0,73*
Глюкоза	11,9±0,9	6,3±0,57*	9,8±0,89*	6,75±0,61*	4,03±0,36*
Лактат	1,64±0,14	1,97±0,17*	2,1±0,19*	2,5±0,92*	1,49±0,13
СОД	1749,74±159	1122±102*	1229±112*	976±88*	1314±119*
ЛДГпр	31,15±2,83	66,4±6,0*	49,7±4,5*	81,7±7,4*	53,5±4,9*
ЛДГобр	178,39±16,2	138±12,5*	181±16,5	151±13,8*	131±11,9*
МДАпл.	0,857±0,07	0,75±0,07	0,62±0,05*	0,64±0,06*	0,53±0,05 !!!
МДАэр-ты	10,746±0,97	8,21±0,75*	10,5±0,9	9,8±0,8	3,97±0,36*
pH	7,181±0,65	7,136±0,65	7,105±0,64	7,11±0,6	7,172±0,6
pO <sub>2</sub>	46,7±4,2	43,5±3,9	57,25±5,2*	64,5±5,9*	62,5±5,7*
BE	-8,07±0,7	-11,58±1,05	-12,7±1,1	-10,57±0,9	-14,7±1,8*
Na <sup>+</sup>	182,19±16,5	200±18,2	194,5±17,6	192,7±17,5	200±18,2
K <sup>+</sup>	2,89±0,26	2,68±0,24	2,85±0,25	2,86±0,3	1,86±0,17*
pCO <sub>2</sub>	56,51±5,1	52,83±4,8*	55,78±5,1	62,78±5,7	35,9±3,26*

Примечание: \* достоверность различий по отношению к интактным животным

Через 60 минут после окончания процедуры сочетанного воздействия электрического поля и озонидов в крови подопытных животных отмечено

дозозависимое возрастание содержания кислорода. Напряжение кислорода в смешанной крови было увеличенным до 123%, 138%, 133 % ( $P < 0,05$ ) в опытных сериях. В контроле отмечено снижение этого показателя (рис. 1).

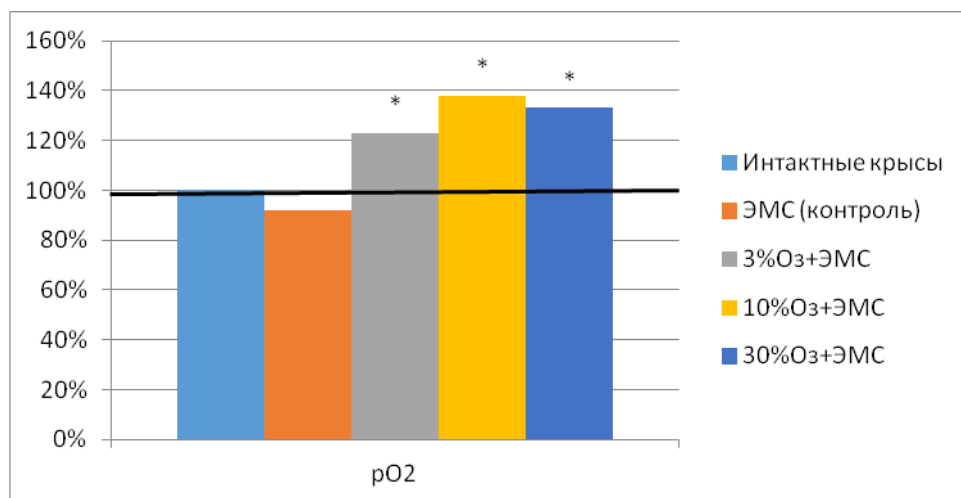


Рис. 1. Изменения напряжения кислорода в крови животных в результате сочетанного применения электроимпульсной стимуляции и влияния активных форм кислорода

Одновременно с этим оказался значительно сниженным уровень содержания углекислоты в крови, особенно в 5 группе крыс с использованием крема с 30% содержанием озонидов, где  $pCO_2$  уменьшилось на 63% от исходного до процедуры уровня ( $P < 0,05$ ). Такая динамика показателей содержания газов крови повторяла эффект влияния озона и озонидов при системной озонотерапии (большая аутогемотерапия с озоном, инфузии озонированного физиологического раствора) на дыхательную функцию крови (Перетягин С.П., 1991; Rokitansky O., 1982). Наравне с этим в компенсаторных механизмах корригирующего влияния на дыхательную функцию крови играли также стимулирующие электроимпульсные воздействия на дыхательную мускулатуру грудной клетки, обуславливающие более эффективное её участие в акте дыхания. Усиление активности дыхательного акта сопровождалось заметным снижением уровня  $pCO_2$  в крови животных с относительной гипернатриемией и гипокалиемией при использовании крема с 30% содержанием активного кислорода во время процедуры электромиостимуляции.

Изменения кислородного бюджета на фоне электромиостимулирующих воздействий, и форетического введения АФК, отмеченные у животных, сопровождалось сдвигами про-и антиоксидантных свойств крови, хотя и не так же значимо выраженными (табл. 1). Обращала на себя внимание тенденция к однонаправленному возрастанию параметров про-и антиоксидантного потенциала крови (рис. 2). При этом было отмечено однозначное снижение энзиматической активности СОД.

Любые физические воздействия, в том числе, электромиостимуляция приводят к образованию АФК. Наибольший выход имеют гидроксил-радикал и гидратированный электрон, которые, обладая высокой реакционной

способностью, взаимодействуют с молекулярным кислородом и макромолекулами, образуя долгоживущие  $O_2^-$  и  $H_2O_2$ . Последние способны к миграции через мембраны и инициируют процессы перекисного окисления. Избыток супероксидного анион-радикала, по-видимому, способствовал в данной ситуации субстратному ингибированию СОД.

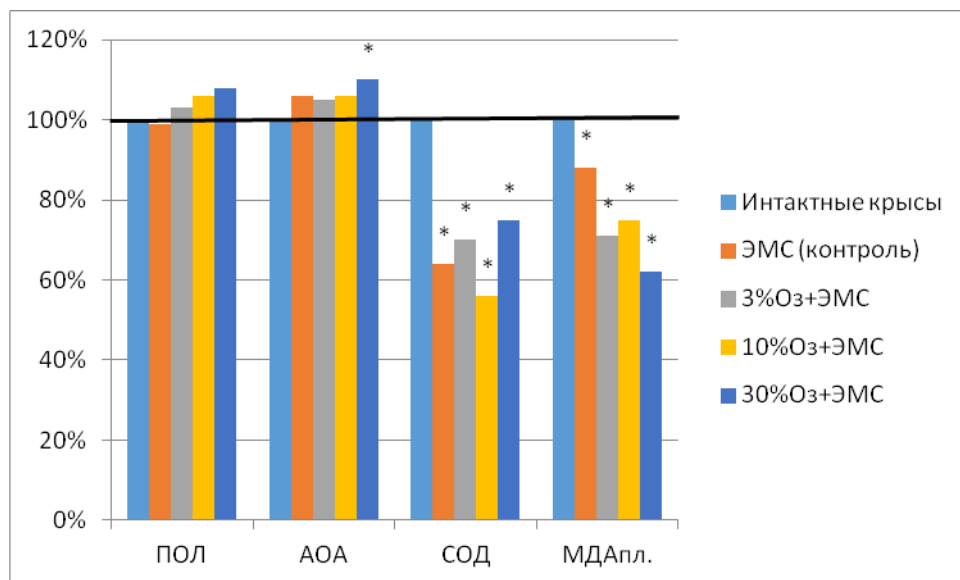


Рис. 2. Изменения про- и антиоксидантного потенциала после процедуры ОЗОТЕНС терапии в эксперименте

С другой стороны, снижение активности СОД было обусловлено затратностью энергетически значимых электростимулирующих влияний на каталитические свойства фермента, что привело к уменьшению концентрации МДА в плазме и эритроцитах крови (табл. 1).

Наиболее значимыми и показательными оказались сдвиги блока метаболических параметров, связанные с энергетической составляющей кислородного гомеостаза. Так было отмечено, что активность ЛДГ достоверно возросла во всех исследуемых группах животных. Причём активирующее влияние оказывала как стандартная процедура ЭМС-стимуляции, так и сочетание её с модулирующим влиянием активных форм кислорода. Увеличение активности фермента, ответственного за биотрансформацию глюкозы, её преобразование в молочную кислоту на пути получения энергии из углеводов в цикле Кребса, сопровождается увеличением потребления сахара в крови. Данная ситуация подтверждалась достоверно сниженным уровнем глюкозы у животных всех испытываемых групп. Максимально низкий уровень глюкозы отмечен в серии с сочетанным применением низкочастотного импульсного воздействия и крема с самым высоким содержанием активных форм кислорода – 30% ( $P < 0,05$ ) (табл. 1, рис. 3).

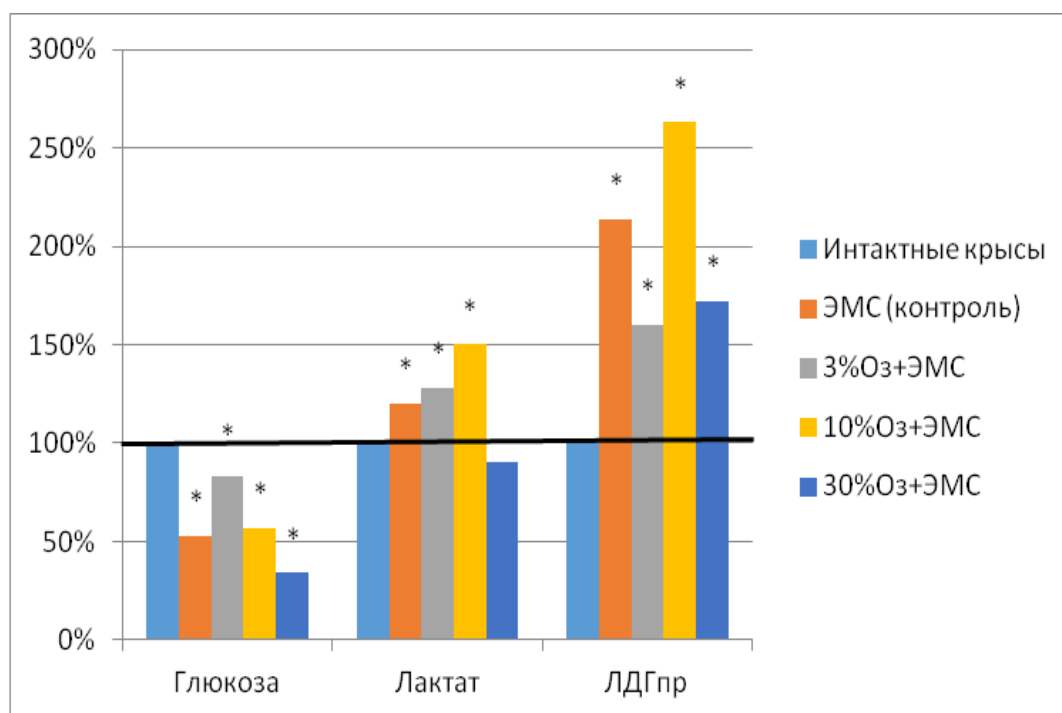


Рис. 3. Показатели энергетического метаболизма крыс после процедуры ОЗОТЕНС-терапии

Интенсификация мышечной работы и кислородного метаболизма за счёт сочетанного влияния ЭМС/TENS-воздействий и каталитического действия активного кислорода из крема, содержащего озониды, положительно модулируя процесс получения энергии, тем не менее быстро его лимитировала. Об этом свидетельствовали показатели уровня лактата в контрольной серии опытов и в сериях с использованием кремов с 3% и 10% содержанием активного кислорода ( $P < 0,05$ ). Возрастание содержания молочной кислоты в крови при интенсивной мышечной работе, как правило, приводит к снижению процессов энергообразования, затрудняет этап преобразования молочной кислоты в пировиноградную и её дальнейшую трансформацию через Ацетил-Коэнзим А в цикле трикарбоновых кислот. И только использование крема со значительно более высоким содержанием активных форм кислорода (30%) при его сочетанном применении с возбуждающим влиянием электрического поля на биологические ткани (ЭМС/TENS-стимуляцией) включало эту непрерывную цепь преобразования энергетических субстратов и способствовало положительному проявлению модулирующего сочетанного влияния на все этапы процесса получения энергии: глюкоза - молочная кислота - пировиноградная кислота - Ацетил-коэнзимА - ЦТК.

### Обсуждение результатов

Результаты исследований сочетанного применения низкочастотных электроимпульсных воздействий и кремов, содержащих активные формы кислорода на экспериментальных животных показали потенцирование основных механизмов лечебного действия и возможность их более эффективного использования для достижения положительных биологических ответных реакций как местного, так и системного значения. При сочетанном применении этих двух

факторов физического (электроимпульсное воздействие) и биологического (биосубстраты крем-геля, содержащего активные формы кислорода в виде озонидов) механизм их саногенетического действия базируется на двух составляющих:

1. активизации функционирования нервно-мышечного компонента тканей путём передачи на него возбуждения за счёт имитируемых аппаратом аутогенных импульсов, повышающих тканевую проницаемость, усиливающих миогенную активность и, как следствие этого, кровообращение в зоне воздействия (Ясногородский В.Г., 2007);

2. применение импульсной методики обработки ткани позволяет модулировать в биологическом объекте две функции поля - электропорационную и электрофоретическую. При электропорации в бислойной липидной мембране возникает локальная перестройка структуры, приводящая к появлению сквозного водного канала, что дает возможность осуществлять трансдермальный перенос лекарственных веществ интракорпорально (Безуглый А.П., 2008. Klenchin V. et al., 1991; Sukharev S. I., et al., 1992)

Проникающие в результате такого механизма в организм озониды крема могут оказывать как местные, так и системные ответные реакции со стороны организма.

При проведении экспериментальных исследований на животных с оценкой местных и системных ответных реакций организма на выполнение процедур TENS-терапии с использованием кремов, содержащих активные формы кислорода, установлено, что первичными функционально-биохимическими реакциями были усиление газообмена с возрастанием напряжения кислорода ( $pO_2$ ) в смешанной крови и снижением в ней количества углекислого газа. Механизмами этих процессов явились электромиостимуляция функции аппарата внешнего дыхания и улучшение дыхательной функции крови за счёт ускоренной транскутанной контаминации крема с озонидами вглубь тканей, поступления активных форм кислорода в системный кровоток, стимуляции ими внутриэритроцитарных путей накопления 2,3-дифосфоглицерат в эритроцитах и, как следствие этого, - большей способности оксигемоглобинообразования в малом круге кровообращения.

Проявлением системного действия озонидов на фоне сочетанного применения в методике процедуры электромагнитного импульсного поля и активных форм кислорода, содержащихся в креме, было усиление активности про- и антиоксидантных систем, проявившееся в виде тенденции у животных с применением процедур TENS-терапии и при сочетании их с транскутанным электрофоретическим введением озонидов крема. Более убедительные достоверные изменения ПОЛ и АОА по данным биохемилюминисценции были получены в серии с использованием крема с высоким содержанием активного кислорода (30 %). Подтверждением антиоксидантной направленности в проявлениях системного метаболического влияния на организм выполнявшихся сочетанных процедур стало однонаправленное дозозависимое снижение уровня одного из основных продуктов ПОЛ – МДА плазмы, который составил 88% ( $p < 0,05$ ), 71% ( $p < 0,05$ ), 75% ( $p < 0,05$ ) и 62% ( $p < 0,05$ ) в соответствующих сериях



экспериментов: с TENS-электроимпульсным воздействием, и сочетанием его с кремами, содержащими 3%, 10% и 30% активных форм кислорода. Ранее нами была отмечена эта закономерность при проведении озонотерапии, как одной из ведущих стартовых проявлений системного влияния озона на организм (Конторщикова К.Н., Перетягин С.П., 2006).

Одной из центральных и наиболее важных точек реализации сочетанного воздействия при проведении данных процедур явилось их синергическое влияние на энергетику гликолитического этапа кислородзависимого метаболизма углеводных субстратов в процессах энергообразования. Само по себе низкочастотное электроимпульсное воздействие сопровождалось увеличением активности ЛДГ<sub>пр</sub> по сравнению с исходным уровнем. Это каталитически влияло на содержание глюкозы, которая уменьшилась на 53% от исходного ( $p < 0,05$ ) и способствовало биотрансформации ее в молочную кислоту. В дальнейшем судьба лактата заключалась в его метаболизировании, биотрансформации в пировиноградную кислоту, которая превращается в ацетил-КоА, претерпевающего своё метаболизирование в цикле трикарбоновых кислот и электронно-транспортных цепях, становясь источником энергообразования. Это основной и наиболее быстрый путь получения энергии в цикле Кребса. Но для адекватного функционирования этой цепи получения энергии из углеводов необходим достаточный уровень присутствия кислорода и его эндогенных активных форм как катализаторов ферментативной активности оксиредуктаз. По всей видимости именно недостаточный уровень кислородообеспечения (в контрольной серии с одним TENS-воздействием был снижен на 8%  $pO_2$  ( $p < 0,05$ )).

Присутствие в опытных сериях экспериментов наряду с электроимпульсным воздействием активных форм кислорода доставляемых транскутанно электрофорезоподобным путём из крема с озонидами за счёт механизмов электропорации обеспечивало больший уровень содержания кислорода в крови и создавало условия для более эффективного использования молочной кислоты в процессах энергообразования – максимальное снижение уровня лактата в крови (90%) оказалось у животных с использованием крема с 30% активного кислорода ( $p < 0,05$ ).

Анализ результатов исследования метаболических параметров гомеостаза животных, полученных через час после окончания процедур TENS-терапии показал преимущества сочетанного с присутствием озонидов крема применение электроимпульсного воздействия на организм подопытных животных. Решающим моментом явилось возрастание содержания кислорода и его активных форм в кровеносном русле животных, подвергшихся накожному сочетанному воздействию электрических полей и активного кислорода кремов. Максимальным преимуществом при этом обладали крема с 30% содержанием активного кислорода, на фоне которых отмечено наиболее выгодное модулирующее влияние процедур ОЗОТENS-терапии. Оно заключалось в значимом усилении ферментативной лактатдегидрогеназной активности на фоне интенсификации про- и антиоксидантного баланса и максимальной утилизации энергетических субстратов (глюкозы и молочной кислоты) в сосудистом русле. Это обеспечивало эффективную выработку АТФ в цикле Кребса, делало более

выгодным и рациональным функциональное состояние жизненно важных органов и систем на примере анализа variability сердечного ритма.

Применение процедур сочетанного воздействия низкочастотной электроимпульсной стимуляции и крема с высоким содержанием активных форм кислорода от исходного сырья (30%) позволяет: получать положительные эффекты присущие ЭМС- TENSтерапии в виде увеличения двигательной активности и за счёт этого усилению притока крови к возбуждаемым мышцам, к интенсификации обменных процессов, активизации пластических биосинтетических процессов, синтезу нуклеиновых кислот. В результате стимуляции мышечной деятельности и усиливающейся афферентации с мышц в центральную нервную систему в больших пирамидных клетках увеличивается количество ДНК, возрастает их плоидность. Это свидетельствует о повышении функционального уровня ЦНС. В крови повышается содержание соматотропного гормона, иммунореактивного инсулина и С-пептида. Стимулирование мышечных элементов многих внутренних органов ведёт к улучшению их деятельности и уменьшению имеющихся патологических проявлений. Миостимуляция сопровождается усилением венозного кровообращения и лимфотока.

Наряду с этим, одновременное применение с процедурой миостимуляции кремов, содержащих озонида, за счёт механизмов электропорации и электрофорезоподобного действия сопровождается целенаправленным воздействием активных форм кислорода на состояние кислородзависимого гомеостаза как на местном, так и на системном уровне. Причём такой безинъекционный путь трансдермального переноса в организм субстратов, содержащих озонида, создаёт возможность системного проявления многих механизмов многофакторного лечебного действия системной озонотерапии.

#### Список литературы;

1Бобровницкий И.П., Василенко А.М. Принципы персонализации и предсказательности в восстановительной медицине // Вестник восстановительной медицины. 2013. №1. С. 2—6.

2Бобровницкий И. П., Нагорнев С. Н., Лебедева О. Д., Яковлев М. Ю., Татаринова Л. В., Бадтиева В. А., Эфендиева М. Т., Полунин А. А. Персонализация программ медицинской реабилитации больных распространенными соматическими заболеваниями // Курортные ведомости. 2012. №4. С. 4-5.

3Бобровницкий И. П., Лебедева О. Д., Яковлев М. Ю. Применение аппаратно-программного комплекса оценки функциональных резервов для анализа эффективности лечения // Вестник восстановительной медицины. 2011. №6. С. 7-9.

4Василенко А.М. Интегративная медицина и электронейростимуляция // Рефлексология. 2006. №2. С. 5-12.

5Даминов Р.Г., Даминов М.Р. Электростимуляция у больных с травмами и заболеваниями нервной системы // В кн.: Практическое руководство по хирургии нервов / Под ред. В.П.Берснева в 2т. СПб.: ФГУ «РНХИ им. проф. А.Л.Поленова», 2009. Т.1. С. 149-179.

6Nizard J., Lefaucheur J.P., Helbert M., de Chauvigny E., Nguyen J.P. Non-invasive stimulation therapies for the treatment of refractory pain // *Discov. Med.* 2012. Vol. 14. P. 21—31.

7Wright A. Exploring the evidence for using TENS to relieve pain // *Nurs Times*. 2012. Vol. 108, N11. P. 20-23.

8Боголюбов В.М. Ясногородский В.Г. Электролечение Медицинская реабилитация (Руководство) / под ред. В.М.Боголюбова. М., 2007. Т. I. С. 194-296.

9Боголюбов В.М., Пономаренко Г.Н. Общая физиотерапия. СПб., 1998. 480 с.

10 Судаков К.В., Адрианов В.В., Вагин Ю.Е., Киселёв И.И. Физиология человека. Атлас динамических схем. М., 2009. 416 с.

11 Bitkina O., Peretyagin S., Soloveva A., Grechkaneva O., Martusevich A., Bugrova M., Peretyagin P., Prodanets N First experience of laboratory control of ozonids-containing cosmetic gels action // *International meeting of the Madrid declaration on ozone therapy. Madrid, Spane.* 2015.

12 Bitkina O.A., Peretyagin S.P., Soloveva A.G., Grechkaneva O.A., Martusevich A.K., Bugrova M.L., Peretyagin P.V., Prodanets N.N. Local and systemic actions of ozonids contained cosmetic gels on organism // *Book of abstracts of 22nd World Congress & Exhibition “Ozone and Advanced Oxidation. Leading-edge science and technologies”.* Barcelona, Spain. 2015. P. 36.

13 Гречканёва О.А., Биткина О.А., Богомолова Е.Б., Перетягин С.П., Перетягин П.В. *Cardiology and internal medicine. XXI N 1-2 (LVII-LX) Tbilisi,* 2017. V/ 156-158

14. Перетягин С.П. Патофизиологическое обоснование озонотерапии постгеморрагического периода. Автореферат докт. дисс. Казань, 1991. 29с.

15. Rokitansky O. *Klinik und biochemic der ozon therapy // Hospitalis.* 1982. N52. P. 643-711.

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

17 Конторщикова К.Н., Перетягин С.П. Закономерность формирования адаптационных механизмов организмов млекопитающих при системном воздействии низкими дозами озона. Диплом на открытие N 309 2006 .

18. Кочетов Г.А. Практическое руководство по энзимологии. – М.: ВШ., 1980. 272с.

19 Кузьмина Е.И., Нелюбин А.С., Щенникова М.К. Применение индуцированной хемилюминесценции для оценок свободнорадикальных реакций в биологических субстратах // *Биохимия и биофизика микроорганизмов.* Горький. 1983. С. 41-48.

20 Uchiyama M., Michara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test // *Analytical Biochemistry.* 1978, №86. P. 271.

21. Klenchin V.A., Sukharev S.I., Serov S.M., Chernomordik L.V., Chizmadzhev Y.A. Electrically induced DNA uptake by cells is a fast process involving DNA electrophoresis // *Biophys. J.* 1991. Vol. 60. P. 804-811.

22 . Sukharev S.I., Klenchin V.A., Serov S.M., Chernomordik L.V., Chizmadzhev Y.A. Electroporation and electrophoretic DNA transfer into cells - the effect of DNA interaction with electropores // Biophys. J. 1992. Vol. 63. P. 1320-1327.

23. Безуглый А.П., Аквафорез – возможности неинвазивной мезотерапии // Нувель эстетик. 2008. №6. С. 170-179.

## ВОЗДЕЙСТВИЕ ОЗОНА НА СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В КРОВИ ПРИ РЕГЕНЕРАЦИИ КОЖНЫХ ПОКРОВОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

<sup>1</sup>Соловьева А.Г., <sup>2</sup>Перетягин С.П., <sup>1</sup>Мартусевич А.К.,

<sup>1</sup>Перетягин П.В., <sup>1</sup>Сазонова И.Е., <sup>1</sup>Беляева К.Л.

<sup>1</sup>ФГБУ «Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр»

Минздрава России, Нижний Новгород, Россия

<sup>2</sup>Ассоциация российских озонотерапевтов, Нижний Новгород, Россия

### Abstract

The influence of reactive oxygen species on the intensity of oxidative metabolism of rats' blood with the operative model of dorsal skin flap in vivo was investigated. The experiment was conducted on 15 Wistar rats. The skin flap on the supply leg was made on the animal back under anesthesia. Rats received intraperitoneal injection of ozonized NaCl solution (3000 mcg/l) and ozone-cream daily for 14 days. In the blood the intensity of free radical oxidation and the activity of superoxide dismutase were determined. Thus, the positive impact of ozone therapy on the balance of pro- and antioxidant systems, activity of superoxide dismutase in rat blood with the operative model of dorsal skin flap was identified.

**Key words:** ozone, lipid peroxidation, regeneration

Исследовано влияние озона на интенсивность окислительного метаболизма крови крыс с оперативной моделью дорзального кожного лоскута in vivo. Эксперимент проведен на 15 крысах линии Wistar. Животным на спине под наркозом выкраивали кожный лоскут на питающей ножке. Крысы на протяжении 14 суток ежедневно получали лечение в виде внутрибрюшинных инъекций озонированного раствора NaCl (3000 мкг/л) с применением озон-крема. В крови изучали интенсивность свободнорадикального окисления, оценивали активность супероксиддисмутазы. Выявлено позитивное влияние озонотерапии на баланс про- и антиоксидантной систем, активность супероксиддисмутазы крови крыс с оперативной моделью дорзального кожного лоскута.

**Ключевые слова:** озон, перекисное окисление липидов, регенерация

Поиск и оценка эффективности новых способов стимуляции репаративной регенерации кожи остаются одной из актуальных задач современной медицины. [1]. Применение озона с этой целью является целесообразным в связи с его высоким окислительно-восстановительным потенциалом, сопровождающим антибактериальное, иммуномодулирующее, противовоспалительное, противовирусное, цитостатическое, анальгезирующее, противогипоксическое действие [4]. Биологические эффекты озона зависят от его концентрации, наличия ферментов-мишеней в клетке [6, 8].

Однако до сих пор не сформировано окончательное представление о путях и физико-химических аспектах действия озона. В этой связи актуальным является выявление всевозможных «точек приложения» озонотерапии в живых биологических системах, включая ее влияние на организм на молекулярном, клеточном и системном уровне. Поэтому важно изучение механизмов действия озонотерапии на функциональное состояние про- и антиоксидантной систем организма в условиях экспериментального окислительного стресса *in vivo*. Целью работы явилась оценка влияния озонотерапии на интенсивность окислительного метаболизма крови крыс с оперативной моделью ишемии дорзального кожного лоскута *in vivo*.

#### **Материалы и методы исследования**

В эксперименте использовали 15 крыс-самцов линии Wistar массой 250-300г. Все животные содержались в стандартных условиях вивария в клетках при свободном доступе к пище и воде на рационе питания, согласно нормативам ГОСТа «Содержание экспериментальных животных в питомниках НИИ». Животных разделили на 3 группы: 1 группа – интактная (здоровые крысы,  $n=5$ ), 2 группа – контрольная – оперированные животные без каких-либо воздействий ( $n=5$ ), 3 группа – опытная – оперированные животные с лечением озоном в послеоперационном периоде ( $n=5$ ).

В интактной группе никакие манипуляции на протяжении исследования не проводились. У крыс опытной и контрольной групп на депилированной спинке под внутримышечным наркозом (Золетил + Ксила) выкраивался кожный лоскут  $3 \times 10$  см на питающей ножке с осевым типом кровообращения. Затем лоскут пришивался на место.

В послеоперационном периоде в течение 14 суток животным третьей группы кожный лоскут ежедневно обрабатывали озон-кремом с содержанием озонидов не менее  $1500 \text{ мг } \text{O}_2/\text{кг}$  (ООО «Медозонс», Н.Новгород) и ежедневно внутрибрюшинно вводили 1 мл 0,9% раствора NaCl с насыщающей концентрацией озона в кислород-озоновой смеси от озонатора «Медозонс-Систем – 3000 мкг/л.

Крыс выводили из эксперимента на 14 сутки после операции путем декапитации с предварительной перерезкой сонной артерии под комбинированным наркозом (Золетил + Ксила). В плазме и эритроцитах изучали активность процессов свободнорадикального окисления (СРО) с помощью метода индуцированной биохемилюминесценции [3] на БХЛ-06 (Н.Новгород). По хемилюминограмме оценивали следующие параметры:  $\text{tg } 2\alpha$  – показатель, характеризует скорость спада процессов СРО в плазме и свидетельствует об общей антиоксидантной активности (АОА);  $S$  – светосумма хемилюминесценции за 30 сек. – отражает потенциальную способность биологического объекта к перекисному окислению липидов (ПОЛ); ПРЭ – перекисная резистентность эритроцитов, характеризует степень выраженности ПОЛ в эритроцитах. Для оценки интенсивности ПОЛ определяли уровень малонового диальдегида (МДА) в плазме и эритроцитах [9]. В эритроцитах определяли активность супероксиддисмутазы (СОД) по ингибированию образования продукта аутоокисления адреналина [5].

Результаты исследований обрабатывали по программе Statistica 6.0. Значимость различий между показателями определяли с помощью t-критерия Стьюдента. Статистически значимыми считались различия при  $p < 0,05$ .

### Результаты исследования и их обсуждение

В результате проведенного исследования выявлено повышение концентрации МДА в контрольной группе на 20% ( $p=0,050$ ) по сравнению с интактными животными (рис. 1).

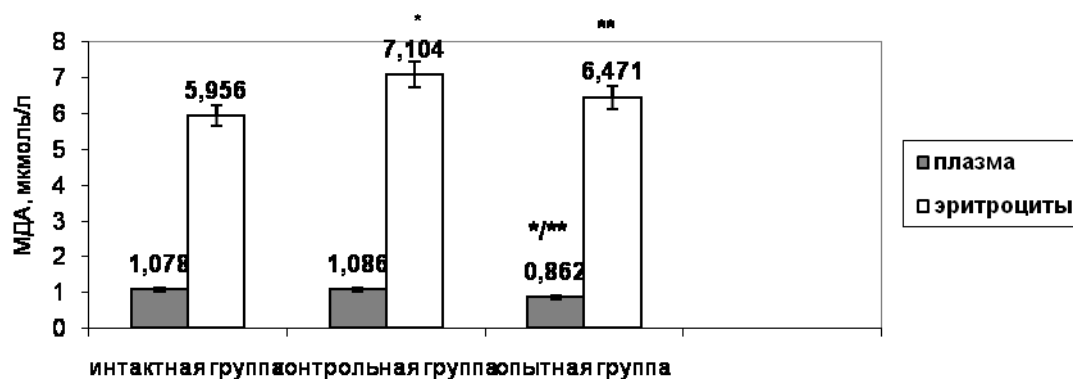


Рис. 1. Концентрация малонового диальдегида в крови здоровых и оперированных животных после проведения озонотерапии.

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с интактной группой ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой крыс ( $p < 0,05$ ).

В эритроцитах животных контрольной группы по сравнению с интактной группой отмечалось снижение на 16% ( $p=0,003$ ) удельной активности СОД, что свидетельствовало о недостаточной степени компенсации процессов СРО антиоксидантной системой у оперированных животных (таблица 1).

Применение озонотерапии вызвало снижение интенсивности СРО в эритроцитах, где концентрация МДА уменьшилась на 10% ( $p=0,043$ ) по сравнению с контрольной группой животных (рис. 1). При этом ПРЭ также уменьшилась на 36% ( $p=0,004$ ) и 26% ( $p=0,014$ ) по сравнению с интактной и контрольной группами соответственно (таблица). Известно, что при контакте озона с мембраной эритроцитов на ней формируются озониды — короткоцепочечные пероксиды, которые способствуют запуску различных звеньев системы антиоксидантной защиты [2]. Активность СОД в опытной группе животных возросла на 60% ( $p=0,006$ ) по сравнению с контролем, превысив показатель здоровых животных на 35% ( $p=0,015$ ) (таблица 1). Следовательно, местное и системное применение АФК оказывает антиоксидантное влияние через активацию СОД.

Выявлено падение концентрации МДА в плазме на 20% ( $p=0,007$ ) (по отношению к обеим группам сравнения) под влиянием озонотерапии, что подтверждает снижение интенсивности СРО (рис. 1). В опытной группе после лечения возросли общие антиоксидантные резервы плазмы крови (на 12% и 18%

соответственно) по сравнению с контрольной ( $p=0,046$ ) и интактной ( $p=0,010$ ) группами (таблица 1).

Таблица 1 Показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы крови здоровых и оперированных животных после проведения озонотерапии

Показатель	Интактная группа (n=5)	Контрольная группа, (n=5)	Опытная группа, (n=5)
ПОЛ, усл. ед.	10,58±0,52	10,93±0,22	11,18±0,54
АОА, усл. ед.	0,913±0,030	0,956±0,030	1,075±0,031 * / **
ПРЭ, усл. ед.	9,79±0,41	8,54±0,74	6,28±0,50 * / **
СОД, усл.ед/мг белка	917,67±18,54	775,14±12,93 *	1241,07±21,07 * / **

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с интактной группой ( $p<0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой крыс ( $p<0,05$ ).

Итак, в опытной группе животных наблюдалось превалирование ферментативного и неферментативного звеньев антиоксидантной системы защиты над процессами липопероксидации, что может свидетельствовать об ингибировании системы биологического окисления под влиянием озона. Полученные результаты подтверждают целесообразность использования  $O_3$  для предотвращения повреждения клеточных структур [7], так как выявленное изменение направленности процессов ПОЛ при применении озона может быть обусловлено изменением конформации клеточной мембраны [2]. Взаимодействием с липидными компонентами клеточных мембран и образованием в результате озонолиза на мембранах озонидов можно объяснить регуляторные эффекты озона, которые обусловлены включением триггерного механизма действия озонидов, запускающего синтез различных биологически активных веществ и активацию ферментов.

### Заключение

Выявлено позитивное влияние озонотерапии на функциональную активность про- и антиоксидантной систем крыс с оперативной моделью дорзального кожного лоскута *in vivo*. Результаты имеют важное прикладное значение для использования в комплексной медицинской реабилитации озонотерапии как инструмент для воздействия на репаративные процессы в очаге поражения в целях восстановления и поддержания тканевых структур.

### Список литературы

1. Глубокова И.Б., Волова Л.Т., Колсанов А.В. Эффективность мазевых композиций и коллагенбутоловых покрытий при лечении инфицированных ран // Экспериментальная и клиническая дерматокосметология. 2005. №1. С. 27-33.
2. Исхакова Р.Р., Сайфуллина Ф.Р. Озонотерапия в офтальмологии // Казанский медицинский журнал. 2013. Т. 94, №4. С. 510-516.



3. Кузьмина Е.И., Перетягин С.П., Евстигнеев С.В. Определение антиоксидантного потенциала в плазме крови ожоговых больных: пособие для врачей. Н. Новгород. ННИИТО. 2000.

4. Павлов Д.С. Озонотерапия в клинической практике // Научно-практический журнал. 2003. №4. С. 49–54.

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

6. Mandhare M.N., Jagdale D.M., Gaikwad P.L. Miracle of ozone therapy as an alternative medicine // Int. J. Pharm. Chem. Biol. Sci. 2012. Vol. 2, N1. P. 63–71.

7. Parva J., Gunjan P., Priti Y. Ozone therapy: the alter-native medicine of future // Rev. Art. Pharm. Sci. 2012. Vol. 2, N4. P. 196–203.

8. Seidler V., Linetskiy I., Hubalkova H. Ozone and its usage in general medicine and dentistry. A review article // Prague Med. Report. 2008. Vol. 109, N1. P. 5–13.

9. Uchiyama M., Mihara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test // Analyticac Biochemistry. 1978. Vol. 86. P. 271.

## Правила оформления статей

*Электронный журнал «Биорадикалы и антиоксиданты» – междисциплинарное научное издание, задачей которого служит объединение и активный диалог исследователей и практиков различных специальностей (медиков, биологов, ветеринаров, биофизиков, химиков, техников, математиков и др.), работающих в области свободнорадикальной биологии и медицины.*

*Журнал открыт для расширения и уточнения тематики публикаций, включает полнотекстовые статьи, находящиеся в открытом доступе. Приветствуются обзоры по наиболее значимым «точкам роста» биомедицины, связанным с изучением и использованием роли радикалов и антиоксидантов в биологических системах различного уровня организации.*

### Тематика публикаций:

1. Свободнорадикальные процессы в биологических системах. Про- и антиоксидатные системы.
2. Озон, его получение, физико-химические свойства и биологическая активность, Экспериментальные и клинические аспекты озонотерапии.
3. Активные формы кислорода: генерация, деградация, физиологическая роль, участие в патогенезе заболеваний человека и животных, клиническое применение.
4. Оксид азота и активные формы азота в биологических системах. NO-метаболизм. Получение и изучение лечебных свойств различных форм оксида азота. Физико-химия и биология естественных депо NO.
5. Природные и синтетические антиоксиданты: получение, исследование свойств, экспериментальные и клинические аспекты.
6. Высокоэнергетические физические факторы и биорадикалы.
7. Аппаратура и оборудование для генерации биорадикалов и NO.
8. Образовательные аспекты и внедрение в учебный процесс представлений об активных формах кислорода, биорадикалах и антиоксидантах.

### Разделы журнала:

1. Передовая статья (до 15 стр.)
2. Оригинальные исследования (до 15 стр.)
3. Обзоры (до 20 стр.)
4. Краткое сообщение (до 5-7 стр.)
5. Новая аппаратура и оборудование (до 7 стр.)
6. Информация о профильных конференциях и конгрессах (до 5-7 стр.)
7. Рекламный блок

### Технические правила по оформлению рукописей:

**Статьи следует направлять по электронной почте:**  
*cryst-mart@yandex.ru (Мартусевич Андрей Кимович)*  
*или psp-aro@mail.ru (Перетягин Сергей Петрович).*

Статья должна быть представлена на русском или английском языке (шрифт Times New Roman, кегль 14, через 1 интервал с шириной полей 2 см.).

Первая страница рукописи должна содержать:

- 1) название статьи;
- 2) инициалы и фамилию автора (-ов);
- 3) полное название учреждения, в котором выполнена работа, город, страну. Фамилии иностранных авторов следует писать в оригинальной транскрипции.

Кроме того, согласно новым требованиям ВАК, просьба представлять на отдельном листе сведения о каждом авторе: 1) фамилию, имя и отчество; 2) должность, ученую степень, ученое звание; 3) полный почтовый служебный адрес (с шестизначным почтовым индексом) и e-mail; 4) номер служебного телефона и факса. Также следует отметить автора (-ов), ответственного за переписку с редакцией.

Название статьи должно быть сформулировано по возможности информативно, но кратко и без сокращений.

Необходимо придерживаться следующего плана написания статьи с выделением каждого пункта в раздел (за исключением обзоров, лекций, кратких сообщений):

- краткое введение с указанием цели данного исследования;

- раздел «Материалы и методы» должен содержать сведения о методах исследования, достаточные для их воспроизведения, однако не следует подробно описывать известные методы, опубликованные ранее. В этом случае достаточно дать ссылку на соответствующий источник литературы. Однако модификации известных методик, разработанные автором (-ами), нужно описать подробно;

- раздел «Результаты и обсуждение» должен быть написан логично с представлением статистической обработки результатов данного исследования;

- выводы и/или заключение, резюмирующие результаты исследования;

- список литературы в алфавитном порядке;

- резюме на русском и английском языках (до 0,5 стр.) с указанием названия статьи, фамилий всех авторов, ключевые слова (не более 10) на русском и английском языках.

Таблицы помещаются в тексте. Каждая таблица должна иметь название и соответствующую ссылку на нее в тексте. В графах таблиц не должно быть пустот или непоясненных прочерков. Таблицы должны быть компактными, их шапка должна соответствовать содержанию граф. Все цифры в таблицах должны соответствовать цифрам в тексте, обязательна их статистическая обработка и объяснение в тексте с указанием принадлежности информации к конкретной таблице. При использовании в таблице сокращений, не упомянутых в статье, или символов (\*, \*\* и т.п.) смысл их объясняется в примечании под таблицей.

Все математические формулы должны быть тщательно выверены.

Все сокращения, принятые в статье, должны быть расшифрованы при первом их упоминании в тексте.

Оформление списка литературы осуществляется в соответствии с требованиями «Ванкуверского стиля». Названия журналов должны быть сокращены в соответствии со стилем, принятым в Index Medicus. Библиографические ссылки в тексте статьи должны даваться номерами в квадратных скобках в соответствии со списком литературы, который формируется в алфавитном порядке: фамилия и инициалы автора (-ов) (сначала отечественные, затем зарубежные авторы, в транскрипции оригинала).

### **Образцы оформления литературы**

#### ***Статья в журнале***

Парфенов Е.В., Дьяконова Е.Г., Масенко В.П. Содержание в крови гормонов, нейромедиаторов и гипертрофия левого желудочка у больных гипертонической болезнью // Кардиология. 1995. №7. С. 18–23.

Vega K.Y., Pina I., Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increased risk for pancreatobiliary disease // Ann. Intern. Med. 1996. Vol. 124, №11. P. 980–983.

#### ***Книга***

Мухарлямов Н.М., Беленков Ю.Н. Ультразвуковая диагностика в кардиологии. М: Медицина, 1981. 320 с.

Ringsven M.K., Bond D. Gerontology and leadership skills for nurses. 2nd ed. Albany (NY): Delmar Publishers, 1996. 540 p.

***Глава в книге, статья в сборнике***

Сидоров М.А., Тезяев В.В. Экстренные полостные эндоскопические исследования и операции // В кн.: Хирургия: наука и труд. - Н. Новгород: Изд-во НГМА, 1999. С. 48–50.

Phillips S.Y., Whisnant Y.P. Hypertension and stroke // In: Laragh Y.H., Brenner B.M. (eds.). Hypertension: pathophysiology, diagnosis and management. 2nd ed. New York: Raven Press, 1995. P. 465–478.

***Редакторы, составители в качестве авторов***

Эпидемиология и факторы риска ишемической болезни сердца / Под ред. А.Н. Климова. Ленинград: Медицина, 1989. 176 с.

Norman I.Y., Redfern S.Y. (Eds.). Mental health care for elderly people. New York: Churchill Livingstone, 1996. 325 p.

***Доклад на конференции***

Гринберг А.А., Нестеренко Ю.Л., Лахтина В.Т. Неотложная хирургия дуоденальной язвы // Мат. 8-го Всерос. съезда хирургов. Краснодар. 1995. С. 63–65.

Bengtsson S., Solheim B.G. Enforcement of data protection, privacy and security in medical informatics // In: Lun K.C., Degoulet P., editors. MEDINFO 92. Proc. of the 7th World congress on medical informatics; Geneva Switzerland. Amsterdam: North-Holland, 1992. P. 1561–1565.

***Диссертация***

Лопатин Ю.М. Состояние нейрогуморальной регуляции кровообращения у больных с хронической сердечной недостаточностью при лечении различными группами лекарственных препаратов. Автореф дис. ... докт. мед. наук. Москва, 1995. 46 с.

Kaplan S.Y. Post-hospital home health care: the elderly's acces and utilization [dissertation]. St. Louis (MO): Washington Univ., 1995.

***Патент, авторское свидетельство***

Ежов Ю.И., Фирсов АЛ. Способ лечения коксартроза при деформациях суставных поверхностей. А.с. 1706591 СССР. 1990.

В оригинальных статьях цитируется не более 30, в передовых статьях и обзорах литературы — не более 60 источников. В список литературы не включаются неопубликованные работы и учебники. Ответственность за правильность данных, приведенных в списке литературы, несет автор.

К статье может быть приложено минимальное, но достаточное количество рисунков (не более 7 для оригинальных статей) с подрисуночными подписями (сюда относятся также диаграммы и графики), необходимых для понимания текста. В тексте статьи должна быть ссылка на каждый рисунок. Рисунки должны быть четкими. Количество обозначений на рисунке должно быть сведено к минимуму, все объяснения следует давать в подрисуночной подписи. Рисунки нумеруются отдельно от таблиц.

Рисунки (графики, диаграммы), представленные в электронном виде, должны быть в файлах с расширением TIFF, BMP, JPEG, PPT. При этом может использоваться любая программа, поддерживающая эти форматы.

Статья должна быть тщательно выверена и отредактирована автором (-ами).

Направление в редакцию работ, уже опубликованных или отправленных в другие журналы, не допускается.

Редакция оставляет за собой право сокращать и редактировать присланные статьи. Корректуры автору (-ам) не высылаются, вся работа с ними проводится по авторскому

оригиналу. Редакция имеет право направить статью экспертам в области, обсуждаемой в статье темы, для независимой (анонимной) научной экспертизы (рецензирования).

Автор (-ы), направляя статью в редакцию, поручает (-ют) редакции обнародовать произведение посредством его опубликования в печати и электронном издании. Редакция при использовании статьи вправе снабжать ее любым иллюстрированным материалом, рекламой и разрешать это делать третьим лицам.

Автор (-ы), направляя статью в редакцию, соглашается (-ются) с тем, что к редакции и издательству журнала переходят исключительные имущественные права на использование статьи (переданного в редакцию журнала материала, в т.ч. такие охраняемые объекты авторского права, как фотографии автора, рисунки, схемы, таблицы и т.п.), в т.ч. на воспроизведение в печати и в сети Интернет; на распространение и тиражирование; на перевод на любые языки народов мира; экспорта и импорта экземпляров журнала со статьей автора (-ов) в целях распространения, на доведение до всеобщего сведения. Указанные выше права автор (-ы) передает (-ют) редакции и издательству без ограничения срока их действия, на территории всех стран мира без ограничения, в т.ч. на территории Российской Федерации. Права на рукопись считаются переданными автором (-ами) редакции и издательству с момента принятия в печать.

За автором (-ами) сохраняется право использования опубликованного материала, его фрагментов и частей в научных и преподавательских целях.

Перепечатка материалов, опубликованных в журнале, другими физическими и юридическими лицами возможна только с письменного разрешения издательства, с обязательным указанием названия журнала, номера и года публикации.

Статьи, оформленные с нарушением вышеизложенных правил, публиковаться не будут.

## Guidelines for Authors

*Journal «Bioradicals and Antioxidants» is a peer-reviewed, open access journal that publishes original research articles as well as review articles in all areas of free radical processes in different biological systems. The general purpose of the journal is integration of specialists (doctors, biologists, veterinary doctors, scientists in physics and chemistry, engineers etc.), working in area of free radical processes in biomedical systems and its practical applications*

**Editor-in-Chief – Prof. Sergey P. Peretyagin ([psp\\_aro@mail.ru](mailto:psp_aro@mail.ru))**

**Vice-Editor-in-Chief – M.D. Andrew K. Martusevich ([cryst-mart@yandex.ru](mailto:cryst-mart@yandex.ru))**

**Articles should be sent to Editor-in-Chief or Vice-Editor-in-Chief.**

### MAIN TOPICS:

- 1. Free radical processes in biological systems. Pro- and antioxidant systems.*
- 2. Reactive oxygen species: generation, physical and chemical aspects, decomposition, physiological effects, role in pathogenesis of different human and animals diseases, clinical use*
- 3. Ozone: generation, physical and chemical properties, biological activity. Experimental and clinical aspects of ozone therapy.*
- 4. Nitric oxide and reactive nitrogen species in biological systems. Generation, biological and sanogenic effects of NO. Bound forms of nitric oxide, including dinitrosyl iron complexes.*
- 5. Natural and synthetic antioxidants: synthesis, investigation of properties, experimental and clinical aspects.*
- 6. High-energy physical exposures and bioradicals.*
- 7. Devices and equipment for generation of bioradicals and NO.*
- 8. Functional and laboratory methods for investigation of free radical processes.*
- 9. Educational aspects in area of bioradicals, nitric oxide and reactive oxygen species.*

### JOURNAL SECTIONS:

- Perspectives (up to 15 pages.)
- Original article (up to 15 pages)
- Reviews and mini-reviews (up to 20-25 pages)
- Short communications (up to 7 pages)
- New devices and equipment (up to 7 pages)
- Conferences and Congresses (up to 5 pages)

### MANUSCRIPT PREPARATION

Manuscripts should be in Word Document (Microsoft Word 97, 2003, 2007) in English or Russian and should follow the style of the Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals, a copy of which can be found at [www.icmje.org](http://www.icmje.org).

### FONTS

Use the font Times New Roman size 14 for the body, size 14 bold for subheadings and headings and size 16 bold for the title, Line spacing=1.

## TITLE PAGE

The title page should state:

- **Title:** title should be without abbreviations.
- **Author(s):** full name of all authors should be mentioned.
- **Affiliation:** Author's affiliation containing: Department, University, City, Country.
- **Corresponding author:** one of the authors should be chosen. Address, telephone and fax number and E-mail should be written.

## ABSTRACT AND KEYWORDS

[required for perspectives, research articles, review articles]

- Abstract of research articles and brief reports should be structured as below:

Background, Objectives, Materials/Patients and Methods, Results and Conclusions. A list of 3-10 keywords must be provided for indexing purposes. All keywords should be provided according to MeSH terms at: <http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html>.

## ARTICLE BODY

Generally includes the: Background, Objectives, Materials/Patients and Methods, Results, Discussion and References.

- **Background:** This should summarize the rationale for the study.
- **Objectives:** State the aims of the study.
- **Materials/Patients and Methods:** This should include exact method or observation or experiment. If an apparatus is used, its manufacturer's name and address should be given in parentheses. If a drug is used, its generic name, dose and route of administration must be given. Statistical method must be mentioned and specify any general computer program used.
- **Results:** Must be presented in the form of text, tables and illustrations.

The contents of the tables should not be all repeated in the text. Instead, a reference to the table number may be given. Long articles may need sub-headings within some sections (especially the Results and Discussion).

- **Discussion:** This should emphasize the present findings and their differences or similarities with other work done in the field by other workers. Emphasize the new and important aspects of the study and the conclusions.

• **Acknowledgments:** All contributors who do not meet the criteria for authorship should be covered in the acknowledgment section. Persons who provided technical help, writing assistance and should also be acknowledged.

- **Tables:** All tables must be included at the end of the manuscript.

Tables in the word file should be separated by page break (each table on a separate page).

The style of table should be simple.

Each cell contains only one paragraph or one line.

- **Figures:** Figures must be included in article body. Resolution should be 300 dpi for a 3\*2 inch figure.

• **Units, symbols, and abbreviations:** Internationally accepted units (International System of Units), symbols, and abbreviations must be used. Abbreviations should be used sparingly and must be introduced in parentheses upon the first mention.

- **Drug names:** Generic drug names must be used.

## REFERENCES

This Journal accepts references according to Vancouver style (with some minor changes) rules established by the International Committee of Medical Journal Editors. In the Vancouver system, the only indication required in the text of a paper is a number, allocated in ascending sequence, and presented in the text either in brackets, or in superscript. For example:

“Recent randomized controlled trials in primary care showed benefits for patients with depression from increased telephone support, better cooperation between primary care and mental health professionals, and more systematic follow up (7).”

If the same source is cited again later in the text, the same number is used once more. If multiple references are cited, use a hyphen to join an inclusive range of numbers thus: (2-5). Use commas without spaces to separate non-inclusive numbers in a multiple citation thus: (2-5, 7, 10).

Optimal number of references for perspectives and reviews is up to 60, and for original articles and mini0reviews – up to 30.

### • *Books and Other Monographs*

The details needed to construct a book reference are presented below.

Each author’s surname followed by the initials (in the same order as they appear on the title page), a comma should separate each author’s name. Title of the book. Edition of the book if there has been more than one. Place of publication or town of origin followed by a colon, Publisher’s name, followed by a semi-colon, Year of publication. e.g.

*Ringsven M.K., Bond D. Gerontology and leadership skills for nurses. 2nd ed. Albany (NY): Delmar Publishers, 1996. 540 p.*

If only a part is cited, add the page numbers, and volume number in the case of multi-volume works, at the end of the reference.

*Meltzer P.S., Kallioniemi A., Trent J.M. Chromosome alterations in human solid tumors // The genetic basis of human cancer. Vogelstein B., Kinzler K.W. (Eds.). New York: McGraw-Hill, 2002. P. 93-113.*

### • *Standard journal article*

List the first three authors followed by et al., paper title, journal title abbreviation, year of publishing, volume number, issue number in parentheses, page range. e. g.

*Vega K.Y., Pina I., Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increased risk for pancreatobiliary disease // Ann. Intern. Med. 1996. Vol. 124, №11. P. 980–983.*

### • *Dissertations (not recommended)*

Kaplan S.Y. Post-hospital home health care: the elderly’s acces and utilization [dissertation]. St. Louis (MO): Washington Univ., 1995.

## REVIEW PROCESS

All submitted manuscripts are subject to peer review and editorial approval. Articles will be sent to at least 2 reviewers. Authors are usually notified within 1-2 months about the acceptability of their manuscript.