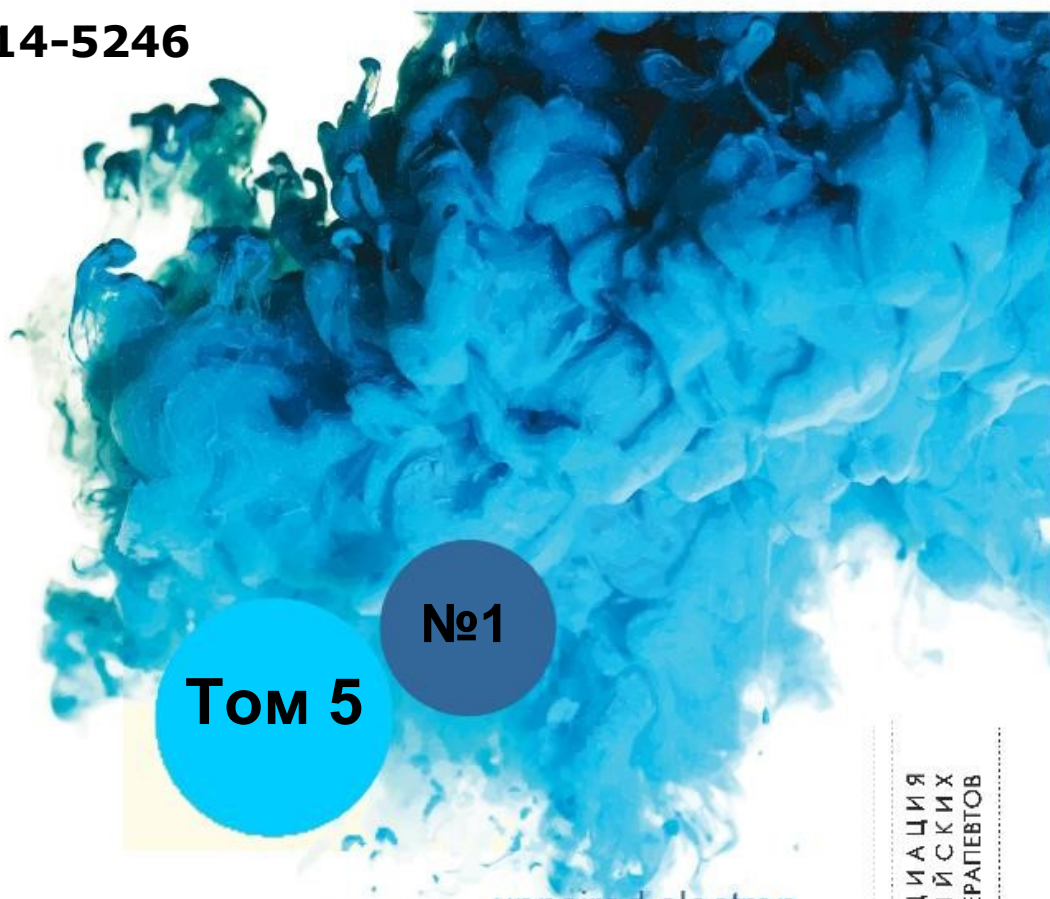
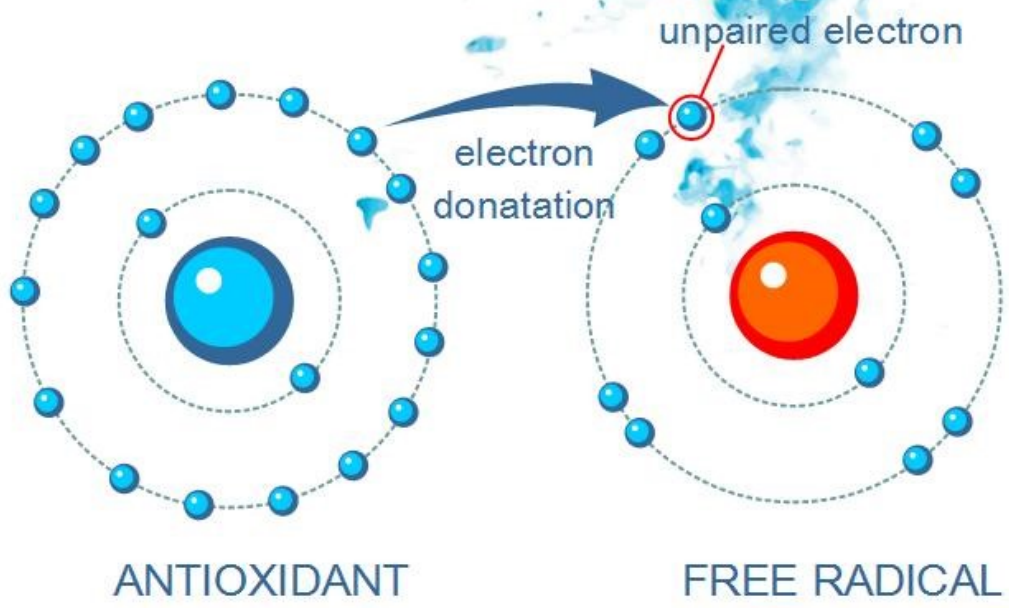


ISSN 2414-5246



Том 5

№1



АССОЦИАЦИЯ  
РОССИЙСКИХ  
ОЗОНОТЕРАПЕВТОВ

БИОРАДИКАЛЫ И  
АНТИОКСИДАНТЫ

2018



**АССОЦИАЦИЯ  
РОССИЙСКИХ  
ОЗОНОТЕРАПЕВТОВ**

Гл. редактор – д.м.н., проф. С.П. Перетягин

Зам. гл. редактора – д.б.н. А.К. Мартусевич

Отв. секретарь – 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)

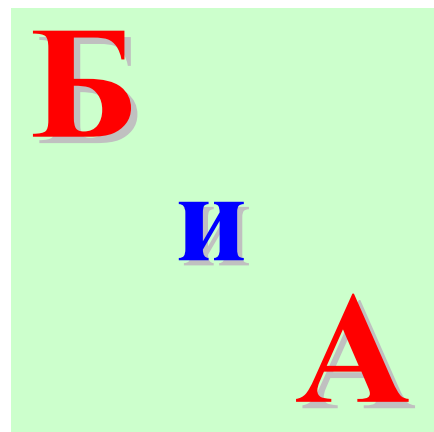
И.В. Мухина, д.б.н., проф. (Н.Новгород)

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 5, №1  
2018**

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

### ОБЗОРЫ

**Мартусевич А.К., Карузин К.А.,  
Самойлов А.С.**

Антиоксидантная терапия:  
современное состояние,  
возможности и перспективы

### REVIEWS

**Martusevich A.K., Karuzin K.A.,  
Samoylov A.S.**

Antioxidant therapy: current status,  
opportunities and prospects

### ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

**Диденко Н.В., Соловьева А.Г.,  
Беляева К.Л.**

Влияние оксида азота и  
динитрозильных комплексов железа  
на активность антиоксидантных  
ферментов в крови *in vitro*

### ORIGINAL ARTICLES

**24 Didenko N.V., Soloveva A.G.,  
Belyaeva K.L.**

Effect of nitric oxide and iron  
dinitrosyl complexes on the activity of  
antioxidant enzymes in blood *in vitro*

**Лебедь С.Л., Бояринов Г.А.,  
Фраерман А.П.**

Применение озонированного  
физиологического раствора в  
послеоперационном периоде у  
больных с новообразованиями  
головного мозга

**30 Lebed' S.L., Boyarinov G.A.,  
Fraerman A.P.**

Application of ozonated saline solution  
in the postoperative period in patients  
with brain tumors

**Мартусевич А.А.**

Сравнительное исследование  
некоторых гематологических  
показателей здоровых крыс в  
динамике ингаляций синглетного  
кислорода и озона

**40 Martusevich A.A.**

Comparative study of some  
hematological indices of healthy rats  
in dynamics of singlet oxygen and  
ozone inhalation

**Стручков А.А., Соколов Р.А.,  
Гординская Н.А.,  
Мельникова Н.Б., Погодин И.Е.**

Противомикробные и репаративные  
возможности геля, содержащего  
пиримидиновые производные,  
натрия сукцинат и  
антибактериальные средства,  
при местном лечении ожоговых ран

**47 Struchkov A.A., Sokolov R.A.,  
Gordinskaya N.A., Molnikova N.B.,  
Pogodin I.E.**

Antimicrobial and reparative  
capabilities of gel containing  
pyrimidine derivatives, sodium  
succinate and antibacterial agents,  
in local treatment of burn wounds

**Яковлев А.Ю., Зайцев Р.М.,  
Кучеренко В.Е.**

Влияние внутриаортального  
введения озонированного  
физиологического раствора на  
содержание метаболитов оксида  
азота у пациентов с  
грамотрицательным сепсисом

***Правила оформления статей***

**57 Yakovlev A.Yu., Zaytsev R.M.,  
Kucherenko V.E.**

Effect of intra-aortic administration of  
ozonated physiological solution on  
the content of nitric oxide metabolites  
in patients with gram-negative sepsis

**67 *Guidelines for authors***

## ОБЗОРЫ

**АНТИОКСИДАНТНАЯ ТЕРАПИЯ: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ, ВОЗМОЖНОСТИ И ПЕРСПЕКТИВЫ**А.К. Мартусевич<sup>1</sup>, К.А. Карузин<sup>2</sup>, А.С. Самойлов<sup>2</sup><sup>1</sup>*ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет»  
Минздрава России, Нижний Новгород*<sup>2</sup>*ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва***Abstract**

The review presents modern ideas about antioxidants as pharmacological agents that form a special direction of drug therapy – antioxidant therapy. The article analyzes the general ideas about antioxidant therapy, its essence and basic principles. Special attention is paid to the characteristics of antioxidants. In particular, the available basic classifications of antioxidants are given, with a special emphasis on the division of these compounds by chemical composition, which directly determines the properties and mechanism of action of the substances under consideration. Such a view of the problem allows to use the existing spectrum of drugs with antioxidant properties as efficiently as possible and to develop innovative substances of directed action for correction of various diseases and pathological conditions.

**Key words:** antioxidants, mechanisms of the effect, classification, antioxidant therapy

В обзоре приведены современные представления об антиоксидантах как фармакологических агентах, формирующих особое направление медикаментозной терапии – антиоксидантную терапию. В статье проанализированы общие представления об антиоксидантной терапии, изложены ее сущность и основные принципы. Отдельное внимание уделено характеристике самих антиоксидантов. В частности, приведены имеющиеся основные классификации антиоксидантов, причем особый акцент сделан на подразделении данных соединений по химическому составу, который непосредственно определяет свойства и механизм действия рассматриваемых веществ. Подобный взгляд на проблему позволяет максимально эффективно использовать имеющийся арсенал лекарственных средств с антиоксидантными свойствами и разрабатывать инновационные вещества направленного действия для коррекции различных заболеваний и патологических состояний.

**Ключевые слова:** антиоксиданты, механизмы действия, классификация, антиоксидантная терапия

Известно, что окислительный метаболизм биологических систем, основанный на поддержании равновесия между процессами свободнорадикального окисления и нейтрализацией биорадикалов, способствует постоянному синтезу различных активных форм кислорода (АФК), в норме компенсируемому функционированием компонентов антиоксидантной системы. В случае превалирующего образования АФК над их утилизацией может формироваться окислительный стресс, включающий в том числе химическую модификацию биоорганических макромолекул вплоть до их деградации (Valentine S. et al., 1998; Halliwell B., Gutteridge J.M.C., 1999). Неконтролируемое прогрессирование данного процесса в условиях дисфункции или недостаточной активности антиоксидантной системы находит отражение в нарушениях на клеточном, тканевом и органном уровнях. Так, тканевой биорадикальный стресс является важным звеном патогенеза широкого спектра патологии, в частности, атеросклеротической и диабетической ангиопатий, ишемической болезни сердца, онкологических заболеваний, нейродегенеративных и аутоиммунных процессов, катарактогенеза и др. (Scandalios J.G., 1997; Halliwell B., Gutteridge J.M.C., 1999).

Следует отметить, что участие отдельных компонентов свободнорадикального окисления при развитии той или иной патологии неодинаково. Так, при формировании атеросклероза наибольшее значение имеют реакции, относящиеся к перекисному окислению липидов, тогда как при нейродегенеративной патологии на первый план выходит окислительная модификация протеинов, а при опухолевом росте превалирует окислительная модификация нуклеиновых кислот (Aruoma O.I., 1996; Valentine S. et al., 1998). С другой стороны, участие всех компонентов в формировании любой патологии является облигатным, так как происходит окислительная модификация всех классов биомолекул, однако степень ее выраженности варьирует в значительных пределах и определяется патогенетическими особенностями конкретного заболевания.

Кроме того, в этом процессе могут принимать несколько различных механизмов. Например, окислительная модификация протеинов может осуществляться вследствие взаимодействия как с самими АФК, так и в результате окислительной модификации реакционноспособными соединениями, синтезирующимися при липопероксидации. Дополнительным механизмом формирования и прогрессирования окислительного стресса служит инактивация ферментов антиоксидантной системы и системы детоксикации биорадикалами, что, в свою очередь, индуцирует интенсификацию перекисного окисления липидов, окислительную модификацию ДНК с нарушением физиологической репарации последней.

Несмотря на особенности реализации окислительного стресса, превалирующее значение в патогенезе различной патологии принадлежит различным процессам, являющимся компонентами свободнорадикального

окисления (Scandalios J.G., 1997; Halliwell B., Gutteridge J.M.C., 1999). Это позволяет предположить целесообразность назначения лекарственных препаратов, обладающих антиоксидантной активностью, при различной патологии, сопряженной с формированием окислительного стресса, причем специфичность патогенеза конкретного заболевания детерминирует выбор фармакологических «мишеней» для действия соединений

В связи с этим, в настоящее время активно применяются препараты различной химической структуры, обладающие достаточно выраженной антиоксидантной активностью, которые могут иметь природное происхождение или быть синтетическими (Rice-Evans C.A., Diplock A.T., 1993; Aguona O.I., 1996, 1998). Следует подчеркнуть, что именно химическая структура антиоксиданта предопределяет механизмы и «точки приложения» эффекта конкретного препарата, и, следовательно, возможный спектр патологии, при которой целесообразно и эффективно его включение в комплексную схему лечения. Этот принцип и может быть заложен в основу фармакологического поиска, селекции и апробации инновационных лекарственных средств с превалирующими или дополнительными антиоксидантными свойствами.

Согласно наиболее распространенной среди многочисленных существующих классификаций антиоксидантов, последние принято подразделять по характеру реализации действия на косвенные (опосредованные) и прямые (направленные).

*Антиоксиданты косвенного действия.* Отличительной особенностью данного класса антиоксидантов является способность ингибировать процессы свободнорадикального окисления исключительно в биологических объектах (от клеточных органелл до целого организма), однако не могут реализовать собственный эффект при применении в условиях *in vitro*. Эта особенность связана с опосредованием действия антиоксидантов данного класса через один или несколько из следующих механизмов (Scandalios J.G., 1997; Wede I., 1998; Morel Y., Barouki R., 1999):

- модуляцию каталитических свойств энзиматических компонентов антиоксидантной системы;
- ингибирование синтеза биорадикалов за счет изменения протекания соответствующих реакций;
- модуляция процессов свободнорадикального окисления в сторону образования более инертных интермедиатов и конечных метаболитов;
- направленная гиперэкспрессия/ингибирование отдельных генов, кодирующих белки, сопряженные с антиоксидантной системой, механизмами антиокислительной репарации молекул ДНК и др.;
- нормализация метаболизма и т. д.

Следует дополнительно отметить, что фармакологические средства с превалирующими эффектами, не затрагивающими окислительный метаболизм, также способны оказывать влияние на процессы

липเปอร์оксидации, что будет служить их побочным действием. При этом косвенно реализация основного действия лекарственного препарата, связанная с нормализацией отдельных нарушенных метаболических реакций, в большинстве случаев будет обеспечивать оптимизацию соотношения активности про- и антиоксидантных систем. Данный феномен обусловлен тем обстоятельством, что, как уже указывалось, интенсификация свободнорадикального окисления вплоть до развития окислительного стресса – облигатный компонент патогенеза различной патологии (Halliwell B., Gutteridge J.M.C., 1999). Следовательно, эффективная коррекция этиологии заболевания косвенно приведет к нормализации процессов перекисного окисления липидов и уровня окислительной модификации биомакромолекул. На основании этого можно заключить, что практически любой фармакологический агент, способный обеспечивать полноценную коррекцию метаболических нарушений, является косвенным «антиоксидантом» организменного уровня.

*Антиоксиданты прямого действия.* Данный класс антиоксидантов, в отличие от предыдущего, непосредственно реализует антиоксидантную активность, которую представляется возможным зафиксировать не только в тестах *in vivo*, но и *in vitro*. Согласно мнению Холливелла и Гаттриджа (1995), рассматриваемая группа антиоксидантов включает «любую субстанцию, которая, присутствуя [в среде] в низкой концентрации, сравнимой с концентрацией способного окисляться субстрата, достоверно снижает или предотвращает окисление этого субстрата». Следует отметить, что большинство существующих лекарственных соединений, применяемых с целью достижения антиоксидантного эффекта, относятся именно к этому классу (Aruoma O.I., 1998; Halliwell B., 2000). Кроме того, новые разрабатываемые для внедрения в клиническую практику антиоксиданты также преимущественно имеют в качестве механизма прямое антиоксидантное действие. Данный факт обусловлен двумя основными причинами. Во-первых, в этом случае существенно облегчается первичный фармакологический скрининг потенциальных антиоксидантов, который при данном условии можно производить путем применения сравнительно доступных тест-систем *in vitro*. Во-вторых, наличие прямого антиоксидантного действия позволяет минимизировать влияние текущего функционально-метаболического статуса организма пациента на их эффективность.

С учетом того, что главным фактором, детерминирующим характер и конкретные особенности клинического эффекта антиоксиданта, является их химическая структура (Cadenas E., 1997; Halliwell B., 2000), принципиальным для направленного поиска антиоксидантов с необходимыми молекулярными мишенями и спецификой реализации основного действия служит их дополнительная классификация. Это позволяет осуществлять селективный

фармакологический скрининг антиоксидантов для нахождения веществ, обладающих требуемыми свойствами.

Следует подчеркнуть, что до настоящего времени единая, общепринятая классификация антиоксидантов отсутствует.

Одна из наиболее простых среди существующих классификаций антиоксидантов базируется на растворимости последних в воде или липидных растворителях [Владимиров Ю.А., 1998; Клебанов Г.И. с соавт., 1999]. В соответствии с данной классификацией принято выделять липофильные (жирорастворимые - токоферолы, билирубин, ретинол и т.д.) и гидрофильные антиоксиданты (водорастворимые - цистеин, аскорбиновая и мочевая кислоты и др.). Клинико-патогенетическая значимость данной классификации связана, во-первых, с тем, что она дает возможность подобрать оптимальную форму введения лекарственного соединения в организм, а также, во-вторых, предопределяет характер его распределения в клеточных и внеклеточных компартментах. Последнее обстоятельство непосредственно детерминирует особенности реализации эффектов антиоксидантов *in vivo*. В то же время данный классификационный принцип не включает информацию о превалирующем механизме эффекта рассматриваемых фармакологических соединений.

В связи с этим, Г.И. Клебановым с соавт. (1999) была предложена и обоснована классификация антиоксидантов, базирующаяся на делении их по клеточно-молекулярным мишеням. Согласно представлениям авторов, к основным молекулярным мишеням действия относятся активные формы кислорода, нерадикальные инициаторы свободнорадикального окисления, промежуточные продукты данного процесса и др. С другой стороны, необходимо отметить, что указанная классификация менее информативна для задач фармакологического скрининга, т. к. не включает сведений о различиях в химическом строении антиоксидантов и не учитывает дополнительные непрямые механизмы их эффекта.

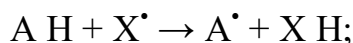
На этом основании в целях создания инновационных средств с антиоксидантной активностью была разработана категоризация антиоксидантов по их химическому составу (Rice-Evans С.А., Diplock А.Т., 1993). Так, были выделены фенольные, каротиноидные, тиольные, гидроксаматные антиоксиданты и другие их группы. Это дало возможность прогнозировать как потенциальную эффективность, так и основные клеточно-молекулярные мишени и степень гидрофобности отдельных соединений и их классов.

С учетом того, что каждая из перечисленных классификаций обладает рядом собственных достоинств и недостатков, наиболее оптимальным вариантом представляется сочетанное использование принципов данных систем категоризации. Для этой цели в основу классификации может быть положено наличие в лекарственном соединении отдельных специфических функциональных групп, которые обуславливают те или иные конкретные

антиоксидантные эффекты. В данном случае наиболее показательны связи вариантов химической структуры антиоксиданта и его фармакологическими свойствами и, следовательно, непосредственным механизмом реализации основного эффекта.

В настоящее время в соответствии с данным классификационным принципом принято выделять 5 наиболее общих групп антиоксидантов прямого действия: ловушки радикалов; комплексообразователи, катализаторы, полиены, доноры протона. Дополнительно следует подчеркнуть, что выделение данных категорий основано на учете только превалирующих в отношении антиоксидантного эффекта функциональных групп атомов. С другой стороны, приведенная классификация наиболее оптимальна для фармакологического скрининга прямых антиоксидантов с необходимым механизмом действия.

1. **Доноры протона** – соединения, способные легко отдавать протон водорода. С учетом этой особенности данных веществ они могут перехватывать свободнорадикальные молекулы, вступая с ними в следующую реакцию:



где АН – антиоксидант с подвижным атомом водорода, а  $X^{\bullet}$  – радикальный инициатор или промежуточный радикальный продукт свободнорадикального окисления

В дальнейшем образующиеся радикальные продукты реакции ( $A^{\bullet}$ ) способны к гомодимеризации или последующему взаимодействию с радикалами-инициаторами или интермедиатами запущенного свободнорадикального процесса ( $X^{\bullet}$ ). Кроме того, они также могут нейтрализоваться в побочных реакциях последнего (Бурлакова Е.Б., Крашаков С.А., Храпова Н.Г., 1998). Следует подчеркнуть, что характер «аннигиляции» радикалов, формируемых антиоксидантом, определяется соотношением исходных концентраций реагентов, а также условиями протекания данного процесса.

Установлено, что антиоксидантная активность соединений данного класса может не полностью соответствовать степени угнетения интенсивности липопероксидации (Бурлакова Е.Б., Крашаков С.А., Храпова Н.Г., 1998; Halliwell В., 2000).

Характеризуя в целом рассматриваемую группу антиоксидантов, необходимо отметить, что лекарственные вещества данной категории наиболее широко используются в клинической практике.

**1.1. Фенолы.** Данная подгруппа соединений имеет в качестве превалирующего механизма реализации антиоксидантного эффекта реакцию с перокси- ( $ROO^{\bullet}$ ) и алкокси-радикалами ( $RO^{\bullet}$ ), которые служат интермедиатами перекисного окисления липидов (Бурлакова Е.Б., Крашаков С.А., Храпова Н.Г., 1998; Naguib Y.M.A., 1998; Bonnefont-Rousselot D.,

Segaud C., Jore D. et al., 1999). Показано, что химическая сущность антиоксидантных свойств фенолов ассоциирована с наличием в основной функциональной группе вещества атома водорода, обладающего высокой подвижностью.

Среди представителей данной группы одними из наиболее оптимальных являются «стерически затрудненные фенолы», особенностью которых служит внедрение в ароматическое ядро соединения пространственно крупных заместителей, располагающихся с соседние с гидроксильной группой положениях (Rice-Evans C.A., Diplock A.T., 1993). В то же время скорость реакции данного типа антиоксидантов с биорадикалами-активными формами кислорода относительно невысока (Бурлакова Е.Б., Крашаков С.А., Храпова Н.Г., 1998; Bonnefont-Rousselot D., Segaud C., Jore D. et al., 1999). с другой стороны, фенолы достаточно эффективны в плане ингибирования процессов перекисного окисления липидов, не оказывают существенного влияния на окислительную модификацию белков. Эти особенности убедительно продемонстрированы в работах различных иностранных авторов (Mao S.J.T., Yates M.T., Jackson R.L., 1994; Halliwell B., Gutteridge J.M.C., 1995; Yan L.J. et al., 1996). Аналогично невысокому протективному потенциалу в отношении белковых макромолекул, выраженность антиоксидантного эффекта рассматриваемого подкласса соединений для нуклеиновых кислот также сравнительно низка. При этом некоторые антиоксиданты-фенолы (в частности, отдельные флавоноиды) могут выступать в качестве хелаторов катионов металлов, обладая комплексообразующими свойствами (Kojima S., 1995).

Интересно, что большинство антиоксидантов, имеющих фенольную действующую функциональную группу, способны в некоторых условиях проявлять прооксидантную активность. Известными факторами, повышающими риск развития подобного эффекта в организме человека и животных, являются:

- концентрация введенного соединения (Бурлакова Е.Б., Крашаков С.А., Храпова Н.Г., 1998);

- исходный уровень интенсивности липопероксидации и продолжительность существования окислительного стресса (Зайцев В.Г., 2000);

- присутствие в реакционной среде значительных количеств катионов металлов переменной валентности (в частности, меди, железа, марганца и др.) [Buettner G.R., Jurkiewicz B.A., 1996; Kontush A. et al., 1996; Ohshima H., Yoshie Y., Auriol S., Gilibert, I., 1996].

В настоящее время наиболее значимыми представителями подкласса фенольных антиоксидантов являются инол (Paras A.M., 1992), пробукол (Mao S.J.T., Yates M.T., Jackson R.L., 1994; Bonnefont-Rousselot D., Segaud C., Jore D. et al., 1999), различные виды токоферола (Евстигнеева Е.П., Волков И.М., Чудинова В.В., 1998; Paras A.M., 1992), флавоноиды (Барабой В.А.,

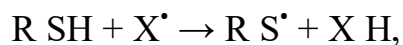
1996; Scandalios, J.G., 1997; Gordon M.H., Roedig-Penman A., 1998), производные фенолов и нафтолов (Papas A.M., 1992), отдельные соединения из группы эстрогенов (Tang M., Abplanalp W., Ayres S., Subbiah M.T., 1996; Martin C. et al., 1998), многие лазароиды (Rice-Evans C.A., Diplock A.T., 1993), катехины (Kawabata T., 1996; Plumb G.W., 1998) и фенолкарбоновые кислоты (Барабой В.А., 1996; Naguib Y.M.A., 1998).

**1.2. Азот-содержащие соединения гетероциклического ряда.** Данная подгруппа антиоксидантов изучена в меньшей степени по сравнению с фенолами. Предполагается, что механизм реализации их эффектов сопоставим с описанным выше для фенольных лекарственных веществ, однако подвижный атом водорода, отщепляющийся у фенолов от основной функциональной группы, у гетероциклических антиоксидантов от самого ароматического цикла в области его взаимодействия с атомом азота.

По аналогии с фенольными производными можно говорить о возможности формирования параллельного основному действию прооксидантного эффекта, но однозначные данные по этому вопросу в литературе отсутствуют.

Среди антиоксидантов-гетероциклов с доказанной антиоксидантной активностью можно выделить 5,6,7,8-тетрагидробиоптерин (Kojima S. et al., 1995), мелатонин (Melchiorri D. et al., 1996), производные 1,4-дигидропиридина (Rojstaczer N., Triggle D.J., 1996) и пирролопиримидина (Rohn T.T., Hinds T.R., Vincenzi F.F., 1996).

**1.3. Тиолсодержащие антиоксиданты.** Существующие представления о механизме реализации антиоксидантных свойств данных соединений включают два основных компонента. Во-первых, вещества, содержащие тиоловые функциональные группы могут служить донорами протона, образуя в качестве интермедиата тиильные радикалы [в дальнейшем подлежащие взаимной нейтрализации либо реакции с другими продуктами свободнорадикального окисления двойственный: тиоловые антиоксиданты способны выступать как в роли доноров протона (с образованием тиильных радикалов)]:



где R SH – молекула тиолсодержащего антиоксиданта, X<sup>•</sup> - продукт или интермедиат свободнорадикального окисления.

Кроме того, соединения, относящиеся к данному подклассу, обладают хелатирующими свойствами в отношении катионов металлов переменной валентности.

К особенностям антиоксидантного действия тиолсодержащих антиоксидантов следует причислить более выраженную способность к снижению интенсивности окислительной модификации протеинов (Yan L.J. et al., 1996). В то же время присутствие в реакционной среде тиильных радикалов с высоким окислительным потенциалом обуславливает

прооксидантные свойства веществ рассматриваемой подгруппы (Зайцев В.Г., 2001; Ueda J., Saito N., Ozawa T., 1996).

Следует отметить, что к данному подклассу антиоксидантов могут быть отнесены как эндогенные соединения – компоненты физиологической антиоксидантной системы (глутатион [Sato K., Sakagami H., 1997], цистеин, гомоцистеин [Ueda J., Saito N., Ozawa T., 1996]), так и синтетические вещества (N-ацетилцистеин [Ueda J., Saito N., Ozawa T., 1996], эрготионеин, дигидролипоевая кислота [Yan L.J. et al., 1996]).

**1.4.  $\alpha,\beta$ -Диенольные соединения.** Данная подгруппа веществ относительно немногочисленна, но имеет принципиальное значение, т.к., аналогично предыдущей, включает физиологические антиоксиданты. В настоящее время подробно раскрыт механизм реализации эффекта основного представителя рассматриваемой подгруппы - аскорбиновой кислоты (Девис М., Остин Дж., Патридж Д., 1999). Показано, что аскорбиновая кислота способна обратимо дегидрироваться с высвобождением протонов с трансформацией в дегидроаскорбиновую кислоту.

С другой стороны, подобное динамическое равновесие предопределяет наиболее выраженный среди всех приведенных выше подклассов антиоксидантов проокислительный эффект, затрудняющий во многих случаях применение данного соединения именно как прямого антиоксиданта, но обуславливающий его большое физиологическое значение [Buettner G.R., Jurkiewicz B.A., 1996; Halliwell B., 2000].

**1.5. Порфирины.** Данный подкласс прямых антиоксидантов в настоящее время активно изучается, хотя акцент исследований смещен не в плоскость антиоксидантных свойств, а на способность данных соединений выступать в качестве фотосенсибилизаторов.

Механизм реализации антиоксидантного эффекта раскрыт недостаточно полно, но предполагается наличие многих молекулярных мишеней для действия порфиринов. Он, в частности, включает возможность донации протонов, их комплексообразующую и хелатирующую способность, катализаторную активность в составе комплексов с некоторыми переходными металлами.

Среди порфиринов-антиоксидантов на первый план, как и в случае тиолсодержащих веществ, выходит компонент неферментной антиоксидантной системы организма - билирубин (Дудник Л.Б., Храпова Н.Г., 1998; Wu T.W. et al., 1996).

**2. Полиеновые соединения** – вещества, в химической структуре которых присутствуют несколько ненасыщенных связей. Указанные особенности химического строения полиенов предопределяют возможность их легкого окисления и, следовательно, конкуренции за взаимодействие с активными формами кислорода и радикалами с биологическими макромолекулами. Это позволяет предотвращать их окислительную модификацию (Rice-Evans C.A. et al., 2003; Olson J.A., 2006).

Непосредственный механизм антиоксидантного действия полиенов ассоциирован с ковалентным присоединением молекул-радикалов по двойным связям (Liebler D.C., McClure T.D., 2003). В то же время следует подчеркнуть, что собственная антиоксидантная активность соединений данного подкласса сравнительно низка (Васильева О.В., Любицкий О.Б., Клебанов Г.И., Владимиров Ю.А., 1998), вследствие чего необходимо их сочетанное применение с антиоксидантами других групп. В частности, удачным вариантом является их комбинация с избыточной концентрацией доноров протона, способствующая синергетическому эффекту формируемой системы (Tesoriere L. et al., 1996).

Характеризуя особенности антиоксидантов полиенового ряда, нужно отметить, то они наиболее эффективны в отношении угнетения процессов липопероксидации по сравнению с интенсивностью коррекции окислительной модификации протеинов и нуклеиновых кислот.

Продемонстрированные рядом авторов прооксидантные свойства полиеновых соединений связаны с тем обстоятельством, что продукты их оксидации способны выступать в качестве интермедиатов в реакциях свободнорадикального окисления (Ланкин В.З. с соавт., 1999; Зайцев В.Г., 2001; Rice-Evans C.A. et al., 2003; Olson J.A., 2006).

Согласно представлениям J.A. Olson (2006), в данную подгруппу входят преимущественно естественные антиоксиданты, синтезируемые в организме человека, животных или растений. К ним относят, в частности, каротиноиды (ликопин, каротины, спириллоксантин, астаксантин, астацин и др.), ретиноиды (ретиноль, ретинол и его эфиры, ретиноевая кислота и др.), а также иные полиненасыщенные вещества.

**3. Катализаторы.** Данная группа соединений включает вещества, обеспечивающие удаление из среды активных форм кислорода и интермедиатов свободнорадикального окисления и не способствующие формированию новых радикалов. Другое название этого класса антиоксидантов – «имитаторы ферментов» (*enzyme mimetics*) [Cadenas E., 1997].

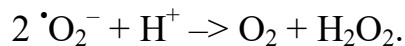
Отличительной чертой антиоксидантных средств рассматриваемой категории является сохранение их в практически неизменном виде и концентрации при введении пациенту, а также существенно более низких эффективных дозах. Это позволяет значительно снизить риск развития побочного действия антиоксидантов-катализаторов и добиваться прологированного эффекта.

Кроме того, в настоящее время отсутствуют сведения о наличии у соединений данного класса прооксидантной активности в физиологических условиях *in vitro* и *in vivo*.

Согласно представлениям В.Г. Зайцева (2001, 2003), наиболее существенный потенциал для клинического применения могут иметь имитаторы супероксиддисмутазы (СОД) и глутатионпероксидазы (ГП). Также

возможна разработка аналогичных препаратов, способных имитировать действие каталазы.

*3.1. Соединения-имитаторы супероксиддисмутазы.* Основной характеристикой антиоксидантов данного класса служит обеспечение процесса дисмутации супероксид-анион-радикала ( $\text{O}_2^-$ ) [Scandalios J.G., 1997; Valentine J.S. et al., 1998]. В физиологических условиях эта реакция обеспечивается СОД и протекает согласно механизму:



Среди органических соединений катализаторами рассматриваемой реакции могут выступать две группы молекул – нитроксилы и аминоксилы. В свою очередь среди них наиболее широкие исследования ведутся в отношении каталитических свойств и метаболической активности веществ нитроксильного ряда, которые способны выступать в качестве базиса для разработки инновационных антиоксидантов (Packer L., Cadenas E., 1996; Зайцев В.Г. с соавт., 2003).

Также к указанному классу антиоксидантов относятся комплексные соединения некоторых азосоединений, включающие ионы железа, меди, цинка, марганца как кофакторов, прежде всего – металлопорфирины, активно рассматриваемые с позиций фармакологического поиска (Patel M., Day B.J., 1999).

Следует отметить, что данный класс антиоксидантов ценен вследствие неспецифичности действия, что обусловлено их молекулярной мишенью (супероксид-анион-радикалом, который представляет собой первичную активную форму кислорода, синтезирующуюся в значительных количествах).

*3.2. Соединения-имитаторы глутатионпероксидазы.* Известно, что механизмом антиоксидантного действия глутатионпероксидазы *in vivo* служит трансформация потенциально токсичных гидропероксидов (ROOH) и перекиси водорода в химически инертные гидроксисоединения (ROH) и воду, которая осуществляется при посредничестве особого тиолового соединения – глутатиона (Valentine J.S. et al., 1998).

Основная доля глутатионпероксидаз имеет селенопротеиновое строение. На этом основании на протяжении последних десятилетий существенно возрос интерес исследователей к селен-содержащим веществам на предмет их антиоксидантных свойств, потенциально реализуемых именно за счет имитации действия рассматриваемого фермента. Результатом изысканий стало нахождение ряда подобных веществ, в частности эбселена (Cadenas E., 1996; Ramakrishnan N., Kalinich J.F., McClain D.E., 1996). Кроме того, аналогичная активность подтверждена для некоторых органических теллуриодержащих веществ (Cadenas E., 1996).

Однако следует подчеркнуть, что для обеспечения необходимого антиоксидантного эффекта в реакционной среде требуется присутствие аскорбиновой кислоты или глутатиона.

Учитывая продемонстрированный выше механизм реализации действия антиоксидантов данного класса, эти соединения ориентированы практически исключительно на ингибирование интенсивности процессов перекисного окисления липидов.

**4. «Ловушки радикалов».** Характерной особенностью антиоксидантов данной группы является фиксация свободных радикалов различного строения путем образования с ними специфических радикальных аддуктов с низкой реактогенностью (Cadenas E., 1996; Halliwell B., 2000).

Интересно, что первично синтезированные соединения, в последующем отнесенные к рассматриваемому классу, были ориентированы на использование их как спиновых меток при проведении электронного парамагнитного резонанса (ЭПР).

Наиболее изучены среди веществ-ловушек радикалов нитроны (в частности, фенил-трет-бутилнитрон), которые способны эффективно взаимодействовать как с супероксидными, так и с гидроксильными радикалами. Так, для них экспериментально (в условиях *in vivo*) подтверждена возможность коррекции окислительного стресса в клеточных структурах, локализованных в ЦНС (Floyd R.A., Carney J.M., 2002).

Указывая на особенности реализации эффекта антиоксидантов-биологовушек, следует отметить универсальность их действия на все звенья свободнорадикального окисления, что ассоциировано с удалением из реакционной среды первичных радикалов.

**5. Антиоксиданты с комплексообразующими (хелатирующими) свойствами.** Данные соединения имеют достаточно ограниченное применение вследствие того, что они осуществляют ингибирование исключительно металл-ассоциированных звеньев свободнорадикального окисления. Механизмом их действия служит хелатирование ионов металлов переменной валентности, участвующих в генерации активных форм кислорода (Владимиров Ю.А., 1998; Halliwell B., 2000). При этом дальнейшая судьба образовавшихся комплексов и возможность их включения в свободнорадикальные реакции определяется многочисленными внутренними (химическая структура самого соединения) и внешними факторами. В связи с этим, введение в организм способно индуцировать как антиоксидантный, так и прооксидантный эффекты, что существенно лимитирует применимость веществ данного класса. Важно отметить, что наличие и выраженность прооксидантного эффекта детерминируется не только строением комплекса, но и особенностями конкретного иницирующего свободнорадикальные процессы агента (Halliwell B., 2000).

Спектр соединений, которые могут быть причислены к рассматриваемому классу, достаточно широк и включает этилендиаминтетрауксусную кислоту и ее соли (трилон Б, комплексон III, версен), карнозин, десфероксамин; 1,10-батофенантролин (Halliwell B., 2000); многие флаваноиды (Kawabata T. et al., 2006), карведилол (Tadolini B.,

Franconi F., 1998), соединения изоникотиноильного ряда (Hermes-Lima M., Nagy E., Ponka P., Schulman H.M., 1998).

### **Заключение**

В целом, в настоящее время спектр веществ, обладающих антиоксидантными свойствами, достаточно широк. При этом ключевой момент, характеризующий возможности современной клинической фармакологии и фармакологического скрининга, - это установление взаимосвязи между химическим строением молекулы антиоксиданта и механизмом реализации его эффектов. С учетом данного факта принципиальную значимость приобретает обобщенная классификация антиоксидантов, базирующаяся на выделении основных функциональных групп соединений, оказывающих непосредственное действие на конкретные молекулярные мишени – определенные компоненты свободнорадикальных реакций в биологических системах. Это позволяет максимально эффективно использовать имеющийся арсенал лекарственных средств с антиоксидантными свойствами и разрабатывать инновационные вещества направленного действия для коррекции различных заболеваний и патологических состояний.

### **Список литературы:**

1. Бобырев В.Н., Почернява В.Ф., Стародубцев С.Г. с соавт. Специфичность систем антиоксидантной защиты органов и тканей - основа дифференцированной фармакотерапии антиоксидантами // Экспериментальная и клиническая фармакология. 1994. Т. 57, №1. С. 47-54.
2. Богач П.Г., Курский М.Д., Кучеренко Н.Е., Рыбальченко В.К. Структура и функции биологических мембран. К.: Вища школа, 1981. 336 с.
3. Варфоломеев С.Д. Простагландины – новый тип биологических регуляторов // Соросовский образовательный журнал. 1996. Т 1. С. 40-47.
4. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М.: Наука, 1972. 252с.
5. Дементьева И.И. Лабораторная диагностика и клиническая оценка нарушений гомеостаза у больных в критическом состоянии. Москва, 2007. 161 с.
6. Детское питание. Руководство для врачей. Под ред. В.А. Тутельяна, И.Я. Коня. М.: МИА, 2009. 941 с.
7. Зайцев В.Г., Островский О.В., Закревский В.И. Связь между химическим строением и мишенью действия как основа классификации антиоксидантов прямого действия // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2003. Т. 66, № 4. С.66-70.
8. Зборовская И.А., Банникова М.В. Антиоксидантная система организма, ее значение в метаболизме. Клинические аспекты // Вестник РАМН. 1995. №6. С.53-60.

9. Зенков Н.К., Ланкин В.З., Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс. Биохимические и патофизиологические аспекты. М.: Наука, 2001. 340 с.
10. Казимирко В.К., Мальцев В.И., Бутылин В.Ю., Горобец Н.И. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная терапия. К.: Морион, 2004. 160 с.
11. Камышников В.С. Карманный справочник врача по лабораторной диагностике. Минск: Бел. навука, 2002. 463 с.
12. Кения М.В., Лукаш А.И., Гуськов Е.П. Роль низкомолекулярных антиоксидантов при окислительном стрессе // Успехи соврем. биологии. 1993. №4. С. 456-470.
13. Клебанов Г.И., Теселкин Ю.О., Бабенкова И.В. и др. Антиоксидантная активность сыворотки крови // Вестник РАМН. 1999. №2. С. 15-22.
14. Кольман Я., Рем К.Г. Наглядная биохимия. М., Мир, 2000. 469 с.
15. Комаров Ф.И., Коровкин Б.Ф. Биохимические показатели в клинике внутренних болезней. Москва: МЕДпресс, 2006. 208 с.
16. Комов В.П., Иванова Е.Ю. Гормональная регуляция оборота супероксиддисмутазы в печени крыс // Вопросы медицинской химии. 1983. №5. С. 79–82.
17. Кондрашова М.Н. Отрицательные аэроионы и активные формы кислорода // Биохимия. 1999. Т. 64, №3. С. 430 – 432.
18. Конторщикова К.Н. Озонотерапия: биологические механизмы эффективности // Экспериментальная и клиническая дерматокосметология. 2004. № 3. С. 13
19. Конторщикова К.Н., Перетягин С.П. Закономерность формирования адаптационных механизмов организмов млекопитающих при системном воздействии низкими терапевтическими дозами озона Диплом №309 на открытие от 18.05.06 г.
20. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Активные формы кислорода и оксидативная модификация макромолекул: польза, вред и защита // Успехи современной биологии. 1993. Т. 113, вып. 1. С. 107-122.
21. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Биологическая роль глутатиона // Успехи современной биологии. 1990. Т. 110, вып. 1(4). С. 20-33.
22. Максимова Т.М. Лекарственные средства природного происхождения, обладающие антиоксидантной активностью // Биоантиоксидант: Материалы международного симпозиума. Тюмень. 1997. С. 85–86.
23. Мартусевич А.А., Перетягин С.П., Мартусевич А.К. Молекулярные и клеточные механизмы действия синглетного кислорода на биосистемы // Современные технологии в медицине. 2012. №2. С. 128-134.
24. Мартусевич А.А., Соловьева А.Г., Мартусевич А.К. Влияние ингаляций синглетного кислорода на состояние про- и антиоксидантных

систем крови и энергетический метаболизм // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2013. Т. 156, №7. С. 51-53.

25. Мартусевич А.А., Мартусевич А.К., Перетягин С.П. Особенности действия синглетного кислорода и озона на процессы липопероксидации и антиоксидантную систему крови и тканей крыс // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2013. Т. 99, №9. С. 1057-1066.

26. Мартусевич А.К., Перетягин С.П., Самоделкин А.Г., Соловьева А.Г., Мартусевич А.А., Иващенко М.Н. Биомедицина оксида азота (NO): функционально-метаболические аспекты. Нижний Новгород, 2017. 261 с.

27. Мартусевич А.К., Давыдюк А.В., Мартусевич А.А., Ковалева Л.К. Влияние физиологического донора оксида азота на окислительный метаболизм крови крыс // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2017. Т. 163, №5. С. 553-555.

28. Мартусевич А.К., Соловьева А.Г., Ашихмин С.П., Перетягин С.П. Влияние ингаляций оксида азота на состояние окислительного и энергетического метаболизма крови крыс // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2015. Т. 101, №2. С. 180-188.

29. Манько В.М., Петров Р.В., Хаитов Р.М. Иммуномодуляция: история, тенденции развития, современное состояние и перспективы // Иммунология. 2002. № 3. Т. 23. С. 132-138.

30. Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К., И.А. Бондарь и др. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты. М., 2006. 556 с.

31. Перетягин С.П., Мартусевич А.К., Ванин А.Ф. Молекулярно-клеточные механизмы трансформации гомеостаза биосистем активными формами кислорода и азота // Медицинский альманах. 2013. №3. С. 80-81.

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

33. Скулачев В.П. Кислород в живой клетке: Добро и зло // Соросовский Образовательный Журнал. 1996. Т. 3. С. 4-10.

34. Тутельян В.А., Суханов Б.П., Астриевских А.Н., Поздняковский В.М. Биологически активные добавки в питании человека. Томск, 1999.

35. Хышиктуев Б.С., Хышиктуева Н.А., Иванов В.Н. Методы определения продуктов перекисного окисления липидов в конденсате выдыхаемого воздуха и их клиническое значение // Клиническая лабораторная диагностика. 1996. №3. С. 13-15.

36. Шанин В.Ю. Патофизиология критических состояний. СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2003. 435 с.

37. Anderson R. Ascorbic acid and immune functions: mechanism of immunostimulation // In «Vitamin C Ascorbic Acid». 1981. P. 249.

38. Anderson R., Lukey P.T., Theron A.J., Dippenaar U. Ascorbate and cysteine-mediated selective neutralisation of extracellular oxidants during N-

formyl peptide activation of human phagocytes // *Agents and Actions*. 1987. Vol. 20, N1/2. P. 77.

39. Barker F, Neuringer M, Johnson E, et al. Dietary zeaxanthin or lutein improves foveal photo-protection from blue light in xanthophyll-free monkeys // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. 2005. Vol. 46. P. 1770.

40. Bendich A., D'Apolito P., Gabriel E., Machlin I.J. Modulation of the immune system function of guinea pigs by dietary vitamin E and C following exposure to oxygen // *Fed. Proc*. 1983. Vol. 42. P. 923.

41. Bendich A., Machlin I.J., Scandurra O. et al. The antioxidant role of vitamin C // *Adv. in Free Radical Biology & Medicine*. 1986. Vol. 2. P. 419.

42. Bettler J., Zimmer J.P., Neuringer M., DeRusso P.A. Serum lutein concentrations in healthy term infants fed human milk or infant formula with lutein // *Eur. J. Nutr*. 2010. Vol. 49, N 1. P. 45–51.

43. Bocci V.A. Scientific and medical aspects of ozone therapy // *State of the art. Arch Med Res*. 2006. Vol. 37. P. 425-435.

44. Bocci V., Larini A., Micheli V. Restoration of normoxia by ozone therapy may control neoplastic growth: a review and a working hypothesis // *J. Altern. Complement. Med*. 2005. Vol. 11. P. 257-265.

45. Bresson J., Flynn A., Heinonen M. et al. Safety, bioavailability and suitability of lutein for the particular nutritional use by infants and young children // *EFSA Journal*. – 2008. - Vol. 823. – P. 1–24.

46. Burton G.W., Ingold K.U. Beta-carotene: an unusual type of antioxidant // *Science*. 1984. Vol. 224. P. 569-573.

47. Burton G.W., Wronska U., Stone L. et al. Biokinetics of dietary RRR-tocopherol in the male guinea pig at three dietary levels of vitamin C and two levels of vitamin E. Evidence that vitamin C does not «spare» vitamin E in vivo // *Lipids*. 1990. Vol. 25. P.199-210.

48. Canfield L., Clandinin M., Davies D. et al. Multinational study of major breast milk carotenoids of healthy mothers // *Eur. J. Nutr*. 2003. Vol. 42. P. 133–141.

49. Capeding R., Gepanayao C.P., Calimon N. et al. Lutein-for-tified infant formula fed to healthy term infants: evaluation of growth effects and safety // *Nutr. J*. 2010. Vol. 21, N 9. P. 22.

50. Carpenter S., Knaus M., Suh M. Association between lutein, zeaxanthine and age related macula degeneration. An overview // *Crit. Rev. Food Sci*. 2009. Vol. 49, N4. P. 313–326.

51. Craft N.E., Haitema H.B., Garnett K.M. et al. Carotenoid, tocopherol and retinol concentrations in the elderly human brain // *J. Nutr. Health Aging*. 2004. Vol. 8. P. 156–162.

52. De Whalley C.V., Rankin S.M., Houlst J.R.S. Flavonoids inhibit the oxidative modification of low density lipoproteins by macrophages // *Biochem. Pharmacol*. 1990. Vol. 39. P. 1743-1750.

53. Delorenze G.N., McCoy L., Tsai A.-L. et al. Daily intake of antioxidants in relation to survival among adult patients diagnosed with malignant glioma // *BMC Cancer*. 2010. Vol. 10. P. 215.

54. Esterbauer H., Gebicki J., Puhl H., Jurgens G. The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL // *Free Radical Biol. Med.* 1992. Vol. 13. P. 341-390.

55. Evans R.M., Currie L., Campbell A. The distribution of ascorbic acid between various cellular components of blood, in normal individuals, and its relation to the plasma concentration // *Brit. J. Nutr.* 1982. Vol. 47. P. 473.

56. Frei B. Natural antioxidants in human health and disease. Orlando, FL: Academic Press, 1993.

57. Frei B., Gaziano J.M. Content of antioxidants, preformed lipid hydroperoxides and cholesterol as predictors of the susceptibility of human LDL to metal ion-dependent and independent oxidation // *J. Lipid Res.* 1993. Vol. 34. P. 2135-2145.

58. Frei B., Stocker R., Ames B.N. (1988) Antioxidant defenses and lipid peroxidation in human blood plasma // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1988. Vol. 85. P. 9748-9752.

59. Fukuzawa K., Inokami Y., Tokumura A. et al. Rate constants for quenching singlet oxygen and activities for inhibiting lipid peroxidation of carotenoids and alpha-tocopherol in liposomes // *Lipids*. 1998. Vol. 33. P. 751–756.

60. Haddad W., Sovied E., Coscas G. et al. Macular pigments and age-related macular degeneration. Clinical implications // *Bull. Soc. Belge Ophtalmol.* 2006. Vol. 301. P. 15–22.

61. Halliwell B., Gutteridge J.M.C. Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage, and antioxidant therapy // *Lancet*. 1984. P.1396-98.

62. Halliwell B.J., Cuttidge M.C. Free radicals in Biology and Medicine. Third edition. Oxford: Oxford University Press, 1999. 937 p.

63. Hardy P., Dumont I., Bhattacharya M. et al. Oxidants, nitric oxide and prostanooids in the developing ocular vasculature: a basis for ischemic retinopathy // *Cardiovasc. Res.* 2000. Vol. 47. P. 489–509.

64. Holden J., Eldridge A., Beecher G. et al. Carotenoid content of U.S. foods: An update of the database // *J. Food Comp. Anal.* 1999. Vol. 12. P. 169–196.

65. Jewell V.C., Mayes C.B.D., Tubman T.R.J. et al. A comparison of lutein and zeaxanthin concentrations in formula and human milk samples from Northern Ireland mothers // *Eur. J. Clin. Nutr.* 2004. Vol. 58. P. 90–97.

66. Johnson E.J., McDonald K., Caldarella S.M. et al. Cognitive findings of an exploratory trial of docosahexaenoic acid and lutein supplementation in older women // *Nutr. Neurosci.* 2008. Vol. 11, N 2. P. 75–83.

67. Krinsky N.L. Membrane antioxidants // *Ann. NY. Acad. Sci.* 1988. Vol. 551. P. 17-33.

68. Landrum J.T., Bone R.A., Chen Y. et al. Carotenoids in the human retina // *Pure Appl. Chem.* 1999. Vol. 71. P. 2237–2244.
69. Leung I.Y., Snodderly D.M., Neuringer M. et al. Nutritional effects of n-3 fatty acids, lutein and zeaxanthin on the lipofuscin accumulation in the foveal retinal pigment epithelium of rhesus monkeys // *IOVS.* 2006. Vol. 47. P. 2822.
70. Lian F., Hu K.-Q., Russell R.M.; Wang X.-D.  $\beta$ -Cryptoxanthin suppresses the growth of immortalized human bronchial epithelial cells and non-small-cell lung cancer cells and up-regulates retinoic acid receptor b expression // *International Journal of Cancer.* 2006. Vol. 119, №9. P. 2084–2089.
71. Liebler D.C. Antioxidant reactions of carotenoids // *Ann. NY. Acad. Sci.* 1993. Vol. 691. P. 20-31.
72. Lorenzo Y., Azqueta A., Luna L., et al. The carotenoid  $\beta$ -cryptoxanthin stimulates the repair of DNA oxidation damage in addition to acting as an antioxidant in human cells *Carcinogenesis.* 2008. Vol. 30, N 2. P. 308–314.
73. Lynch S.M., Morrow J.D., Roberts L.J. II, Frei B. (1994) Formation of non-cyclooxygenase-derived prostanoids (F2-isoprostanes) in plasma and low density lipoprotein exposed to oxidative stress in vitro // *J. Clin. Invest.* 1994. Vol. 93. P. 998-1004.
74. Martínez-Sánchez G, Delgado-Roche L, Díaz-Batista A, Pérez-Davison G, Re L. Effects of ozone therapy on haemostatic and oxidative stress index in coronary artery disease // *Eur. J. Pharmacol.* 2012. Vol. 691. P. 156-162.
75. Perrone S., Longini M., Marzocchi B. et al. Effects of lutein on oxidative stress in the term newborn: a pilot study // *Neonatology.* 2010. Vol. 9, N1. P. 36–40.
76. Pryor W.A. Free radicals and lipid peroxidation: what they are and how they got that way // In: Frei B. (ed.) *Natural antioxidants in human health and disease.* Orlando, FL: Academic Press. 1994. P. 1-24.
77. Retsky K.L., Freeman M.W., Frei B. Ascorbic acid oxidation product(s) protect human low density lipoprotein against atherogenic modification // *J. Biol. Chem.* 1993. Vol. 268. P. 1304-1309.
78. Shao A., Hathcock J.N. Risk assessment for the carotenoids lutein and lycopene // *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 2006. Vol. 45, N 3. P. 289–298.
79. Shiraki A. et al. Role of  $\text{Ca}^{2+}$  mobilization and  $\text{Ca}^{2+}$  sensitization in 8-iso-PGF 2 alpha-induced contraction in airway smooth muscle // *Clin. Exp. Allergy.* 2009. Vol. 39, № 2. P. 236-245.
80. Spicuzza L. et al. Effect of 8-isoprostaglandin F2 $\alpha$  on acetylcholine release from parasympathetic nerves in guinea pig airways // *Eur. J. Pharmacol.* 2001. Vol. 416. P. 231-234.
81. Stahl W., Sies H. Antioxidant effects of carotenoids: implication in photoprotection in humans // In: *Handbook of anti-oxidants.* Eds. Cadenas E, Packer L. N.Y.: Marcel Dekker, 2002. P. 223–233.
82. Stahl W., Sies H. Effects of carotenoids and retinoids on gap junctional communication // *Biofactors.* 2001. Vol. 15. P. 95–98.

83. Stocker R., Frei B. Endogenous antioxidant defences in human blood plasma // In: Sies H. (ed.) Oxidative stress: oxidants and antioxidants. London: Academic Press. 1991. P. 213-243.

84. Stocker R., Glazer A.N., Ames B.N. Antioxidant activity of albumin-bound bilirubin // PNAS. 1987. Vol. 84. P. 5918-5922.

85. Theron A., Anderson R. Investigation of the protective effects of the antioxidants ascorbate, cysteine, and dapsone on the phagocyte-mediated oxidative inactivation of human 1-protease inhibitor in vitro // Am. Rev. Respir. Dis. 1985. Vol. 132. P. 1049.

86. Yilmaz T., Kogan E.G. The role of oxidants and antioxidants in adenoid hypertrophy in children// Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol. 2004. Vol. 68, N8. P. 1053–1058.

87. Viebahn-Haensler R. The use of ozone in medicine. Medicina Biologica, 1999. 148 p.

88. Zimmer J.P., Hammond B.R. Possible influences of lutein and zeaxanthin on the developing retina // J. Clin. Ophthalmol. 2007. Vol. 1, N1. P. 25–35.

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

**ВЛИЯНИЕ ОКСИДА АЗОТА И ДИНИТРОЗИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ЖЕЛЕЗА НА АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ В КРОВИ IN VITRO**

Н.В. Диденко, А.Г. Соловьева, К.Л. Беляева

*ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет»*

*Минздрава России, Нижний Новгород*

**Abstract**

In the article the effect of different concentrations of nitric oxide and dinitrosyl iron complexes (DNICs) on specific activity of antioxidant enzymes of blood in vitro was considered. It was shown that the maximum increase in the specific activity of superoxide dismutase, catalase, glutathione reductase occurred using a concentration of NO - 100 ppm compared to lower concentrations of nitric oxide (20, 50, 75 ppm). The activity of superoxide dismutase (SOD), catalase and glutathione reductase (GR) increased when deposited form NO (DNIC) added to the donor blood in vitro in the ratio of 1:100 and 1:50. The activity of enzymes of the antioxidant system, especially SOD, decreased when adding DNA in a ratio of 1: 25.

**Key words:** nitric oxide, dinitrosyl iron complexes, superoxide dismutase, catalase, glutathione reductase

В статье рассмотрено влияние различных концентраций оксида азота и динитрозильных комплексов железа (ДНКЖ) на удельную активность антиоксидантных ферментов донорской крови в условиях *in vitro*. В результате эксперимента показано, что при воздействии на донорскую кровь экзогенного NO в виде газового потока максимальное увеличение удельной активности таких антиоксидантных ферментов как супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионредуктаза происходит при использовании концентрации NO - 100 ppm по сравнению с меньшими концентрациями оксида азота (20, 50, 75 ppm). При введении в образцы донорской крови в условиях *in vitro* депонированной формы NO в виде комплексов ДНКЖ также отмечено повышение активности супероксиддисмутазы (СОД), каталазы и глутатионредуктазы (ГР) в соотношениях 1:100 и 1:50. При добавлении ДНКЖ в соотношении 1:25 наблюдался спад активности ферментов антиоксидантной системы, особенно проявившийся в снижении удельной активности СОД.

**Ключевые слова:** оксид азота, динитрозильные комплексы железа, супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионредуктаза

Молекулы-метаболиты являются фундаментальной основой функционирования сложных биологических систем, поэтому чрезвычайно большой интерес представляет возможность управления их реакционной способностью, что может быть использовано для регуляции процессов метаболизма [5]. Оксид азота (NO) — уникальный по своей природе и механизмам действия как первичный так и вторичный мессенджер, вовлеченный во множество биохимических и физиологических процессов [3].

В настоящее время известно о полифункциональности действия NO, носящее порой противоположный характер. Условия, при которых защитное действие NO переходит в повреждающее, недостаточно ясны [5]. Исходя из этого не ясно, какие количества NO благоприятны для организма, а какие следует считать увеличенными. Однако при любом подходе к решению проблемы регуляции NO необходимо иметь в виду, что NO - универсальный медиатор метаболизма и резкое изменение его генерации может привести к нарушению функциональной активности многих биосистем [2]. Будучи свободным радикалом, NO имеет короткую продолжительность жизни – около 6—10 с. Поэтому ученые все чаще обращаются к природным формам связывания NO – динитрозильным комплексам железа (ДНКЖ). Известно, что ДНКЖ представляют собой стабильные комплексы, обладающие собственной метаболической активностью и способны выступать в качестве «ловушки» свободных радикалов [1].

**Цель работы** - изучить влияние различных концентраций оксида азота и динитрозильных комплексов железа на удельную активность антиоксидантных ферментов донорской крови в условиях *in vitro*.

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

Эксперимент был проведен на консервированной крови от пациентов-доноров (n=35). Генерацию оксида азота производили с помощью специализированного аппарата, разработанного в РФЯЦ (Саров). Был выполнен барботаж образцов крови (5мл) газовой смесью в течение 2 минут. В качестве действующих концентраций использованы 20, 50, 75 и 100 ppm NO.

Синтез ДНКЖ осуществляли по методике А.Ф. Ванина с соавт. [1]. Концентрация водного раствора ДНКЖ, взятого в эксперимент, составляла 5 ммоль/л (определялась спектрофотометрически по известным молекулярным экстинкциям при длинах волн 310 и 360 нм). В пробирки, содержащие по 5 мл консервированной крови, добавляли свежеполученный водный раствор ДНКЖ в соотношении 1:150, 1:100, 1:50 и 1:25.

Активность СОД измеряли по ингибированию образования продукта аутоокисления адреналина [7]. Активность каталазы оценивали спектрофотометрическим методом, основанным на определении скорости разложения перекиси водорода каталазой исследуемого образца с образованием воды и кислорода [6]. Активность ГР исследовали методом,

основанным на изменении абсорбции раствора при образовании окисленной формы НАД<sup>+</sup> [6]. Результаты исследований подвергали статистической обработке с использованием t-критерия Стьюдента.

### Результаты и обсуждение

Известно, что сама молекула NO обладает антиоксидантными свойствами, что оказывается эффективным способом ограничения активации свободнорадикального окисления [10].

В результате эксперимента показан рост удельной активности СОД донорской крови при воздействии на неё газового потока, содержащего NO во всех выбранных концентрациях. При этом удельная активность энзима находилась в прямой зависимости от повышения концентрации NO. С ростом исследуемых концентраций NO в газовом потоке от 20 до 100 ppm удельная активность СОД возросла в 1,05 раза ( $p=0,075$ ), в 1,09 раза ( $p=0,031$ ), в 1,1 раза ( $p=0,028$ ) и в 1,25 раза ( $p=0,034$ ) соответственно по сравнению с контролем (табл. 1).

Таблица 1. Удельная активность супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионредуктазы в донорской крови при воздействии на нее оксида азота в условиях *in vitro*

Условия эксперимента	Активность СОД, усл.ед./мин*мг b	Активность каталазы, усл.ед./мин*мг b	Активность ГР, нмоль/мин*мг b
Контроль	245,83±10,13	0,0261±0,0016	106,41±6,76
20 ppm NO	258,11±12,65	0,0317±0,0022*	129,09±11,29*
50 ppm NO	268,06±10,98*	0,0391±0,0029*	121,96±8,06*
75 ppm NO	271,24±13,77*	0,0284±0,0018	122,01±8,75*
100 ppm NO	307,05±19,64*	0,0318±0,0021*	178,75±18,63*

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с контролем ( $P \leq 0,05$ )

Такая динамика изменений функционального состояния фермента может быть объяснена способностью NO регулировать антиоксидантную активность самих энзимов и экспрессию кодирующих их генов [8]. Удельная активность каталазы в донорской крови, обработанной газовой смесью, содержащей 20 ppm NO, возросла статистически значимо по сравнению с контролем в 1,21 раза ( $p=0,028$ ). Наиболее существенное увеличение удельной активности каталазы отмечено при концентрации NO 50 ppm (в 1,5 раза по сравнению с контролем;  $p=0,03$ )<sup>4</sup>. Воздействие газового потока, содержащего NO в концентрации 75 ppm, не вызвало статистически значимого увеличения удельной активности каталазы. При воздействии на донорскую кровь газового потока NO 100 ppm удельная активность каталазы статистически значимо возросла в 1,22 раза ( $p=0,031$ ) по сравнению с контролем.

Также установлено увеличение удельной активности ГР при концентрации NO 20 ppm в 1,21 раза ( $p=0,023$ ), при концентрации NO 50 ppm - в 1,14 раза ( $p=0,037$ ), при концентрации NO 75 ppm - в 1,15 раза ( $p=0,029$ ) по сравнению с контролем. Максимальное увеличение удельной активности ГР (в 1,67 раза по сравнению с контролем;  $p=0,041$ ) наблюдалось при концентрации NO 100 ppm.

Таким образом, показано, что газовый поток, содержащий NO в концентрации 100 ppm, увеличивает удельную активность в донорской крови всех исследуемых антиоксидантных ферментов по сравнению с влиянием на ферменты NO в меньших концентрациях (20, 50, 75 ppm).

Однако в организме основная часть пула NO присутствует в связанной форме, формируя квазистабильные нетоксичные комплексы, что способно существенно уменьшать неблагоприятное действие экзогенного введения NO. Исследование таких комплексов, содержащих NO в депонированной форме, представляет собой актуальную научную проблему, так как они способны мигрировать и накапливаться в разных областях организма, что является одним из факторов избирательности их действия, а также данные комплексы являются природными формами связывания NO, что дает возможность их применения в качестве эффективных и безопасных лекарственных препаратов - доноров NO, обладающих гипотензивным и антиоксидантным действием [9].

Исследование влияния ДНКЖ на активность ферментов антиоксидантной системы показало, что добавление к донорской крови малых количеств водного раствора ДНКЖ (в соотношении 1:150 и 1:100) увеличивает удельную активность СОД в 1,22 раза ( $p=0,034$ ) и в 1,24 раза ( $p=0,036$ ) соответственно по сравнению с контролем (табл. 2).

Таблица 2. Удельная активность супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионредуктазы в донорской крови при добавлении в нее ДНКЖ в условиях *in vitro*

Условия эксперимента	Активность СОД, усл.ед./мин*мг b	Активность каталазы, усл.ед./мин*мг b	Активность ГР, нмоль/мин*мг b
Контроль	219,73±19,56	0,0328±0,0012	74,39±3,26
1:150	267,65±22,03*	0,0304±0,0008*	117,48±8,15*
1:100	271,54±25,47*	0,0343±0,0016	138,34±10,48*
1:50	224,63±22,01	0,0358±0,0017*	145,15±17,64*
1:25	172,59±16,28*	0,0301±0,0008*	121,47±9,85*

Примечание: \* – различия статистически значимы по сравнению с контролем ( $p \leq 0,05$ )

Известно, что ДНКЖ обладают метаболической активностью и проявляют собственные антиоксидантные свойства. Однако в зависимости от

концентрации ДНКЖ может происходить конкурентная реакция  $\text{NO}$  с  $\text{O}_2^-$ , продуктом которой является пероксинитрит, что проявляется отсутствием антиоксидантного действия [4].

Отмечено, что добавление ДНКЖ в донорскую кровь в соотношении 1:50 привело к увеличению удельной активности каталазы в 1,09 раза ( $p=0,011$ ) соответственно по сравнению с контролем.

Кроме того, показано повышение удельной активности ГР при добавлении ДНКЖ в донорскую кровь во всех представленных соотношениях. Так, добавление ДНКЖ в соотношении 1:150; 1:100; 1:50; 1:25 увеличивало активность фермента в 1,58 раза ( $p=0,032$ ), в 1,86 раза ( $p=0,034$ ), в 1,95 раза ( $p=0,037$ ) и в 1,63 раза ( $p=0,033$ ) соответственно по сравнению с контролем.

В ходе проведенного исследования выявлен дозозависимый эффект воздействия динитрозильных комплексов железа на активность супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионредуктазы донорской крови в условиях *in vitro*.

Таким образом, следует отметить, что концентрация  $\text{NO}$  является главным фактором, обуславливающим его биологический эффект. При низких концентрациях оксида азота в основном преобладают проадаптивные эффекты, направленные на поддержание гомеостаза организма. При высоких концентрациях, преобладающими становятся не прямые эффекты, обусловленные образованием и последующим действием высокореакционноспособного соединения-пероксинитрита. Это согласуется с результатами наших предшествующих исследований [4].

### **Заключение**

В результате эксперимента показано, что при воздействии на донорскую кровь экзогенного  $\text{NO}$  в виде газового потока максимальное увеличение удельной активности таких антиоксидантных ферментов как супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионредуктазы происходит при использовании концентрации  $\text{NO}$  - 100 ppm по сравнению с меньшими концентрациями оксида азота (20, 50, 75 ppm). При добавлении к донорской крови в условиях *in vitro* депонированной формы  $\text{NO}$  в виде комплексов ДНКЖ в соотношениях 1:100 и 1:50 также отмечено повышение активности СОД, каталазы и ГР. При добавлении ДНКЖ в соотношении 1:25 наблюдался спад активности ферментов антиоксидантной системы, особенно проявившийся в снижении удельной активности СОД.

### **Список литературы**

1. Ванин А.Ф., Адамян Л.В., Бургова Е.Н., Ткачев Н.А. Физико-химическое обоснование лечебного действия на эндометриоз динитрозильных комплексов железа с тиолсодержащими лигандами // Биофизика. 2014. Т. 59, №4. С. 766–776.

2. Зарипова Р.И. Изменение содержания оксида азота в тканях крыс при гипокинезии различной длительности: дисс. ... канд. биол. наук. Казань: К(П)ФУ, 2012. 131 с.

3. Камиллов Ф.Х. Оксид азота при терапии больных псориазом с использованием препаратов из экстракта травы люцерны посевной / Камиллов Ф. Х., Бурханова Н. Р., Капулер О. М., Фахретдинова Х. С. // Клинические исследования. Т.18. № 6. С.38-43.

4. Мартусевич А.К. Анализ влияния оксида азота на физико-химические параметры крови *in vitro* / Мартусевич А.К., Соловьева А.Г., Перетягин С.П., Диденко Н.В. // Врач-аспирант. 2013. Т.57, №2.1. С.218-222.

5. Паршина С.С. Биологические эффекты оксида азота в развитии сердечно-сосудистой патологии как основа применения терагерцевой терапии / Паршина С.С., Афанасьева Т.Н., Тупикин В.Д. // Бюллетень медицинских интернет-конференций. 2012. Т.2. №6. С.446-452.

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

7. 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.

8. Степура Т.Л. Роль оксида азота в регуляции сродства гемоглобина к кислороду при стрессе / Степура Т.Л., Зинчук В.В. // Фундаментальные и прикладные проблемы стресса: мат. III Междунар. науч.-практ. конф., Витебск, 16-17 апреля 2013 г. Витебск : ВГУ имени П.М. Машерова, 2013. С. 89-91.

9. Тимошин А.А., Лакомкин В.Л., Рууге Э.К., Ванин А.Ф. Фармакокинетика и распределение динитрозильных комплексов железа в тканях органов крыс // Биофизика. 2012. Т.57, № 2. С. 331-337.

10. Sharma S.K., Kim H, Roqler P.J., Karlin K.D. Isocyanide or nitrosyl complexation to hemes with varying axial base ligand donors: synthesis and characterization // Journal of biological inorganic chemistry. 2016. Vol. 21. P. 729-743.

## ПРИМЕНЕНИЕ ОЗОНИРОВАННОГО ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО РАСТВОРА В ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ У БОЛЬНЫХ С НОВООБРАЗОВАНИЯМИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

С.Л. Лебедь, Г.А. Бояринов, А.П. Фраерман

*ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет»*

*Минздрава России, Нижний Новгород*

*ГБУЗ НО «Городская клиническая больница №39», Нижний Новгород*

### **Abstract**

The aim of the study was to substantiate the use of intravenous infusions of ozonated physiological solution in the complex treatment of postoperative period of patients after removal of brain tumors. The study is based on the analysis of the results of treatment of 98 patients with brain tumors, who were in the Interregional neurosurgical center and examination of 30 donors of the blood transfusion Department of hospital No. 39 (Nizhny Novgorod). Donors made up a control group, and patients - four studied groups. In 47 patients, systemic ozone therapy was included in the complex of therapeutic measures. It was found that the use of ozone therapy in the complex of postoperative treatment of neurooncological patients can significantly increase the anti - edematous effect of the therapy: regardless of the morphological structure of brain neoplasms in most patients, the beginning of the resolution of paraorbital edema was observed for 3 days, and in 100% of patients receiving ozone therapy-for 4 days.

**Key words:** ozonized saline, ozone therapy, brain tumors, postoperative period

Цель исследования - обосновать применение внутривенных инфузий озонированного физиологического раствора в комплексе лечения послеоперационного периода больных после удаления новообразований головного мозга (ГМ). Исследование основано на анализе результатов лечения 98 больных с опухолями ГМ, находившихся в Межрегиональном нейрохирургическом центре и обследования 30 доноров отделения переливания крови МЛПУ больница №39 (г. Нижний Новгород). Доноры составили контрольную группу, а больные - четыре исследуемые группы. У 47 пациентов в комплекс лечебных мероприятий была включена системная озонотерапия. Установлено, что применение озонотерапии в комплексе послеоперационного лечения нейроонкологических больных позволяет значительно повысить противоотечный эффект проводимой терапии: независимо от морфологического строения новообразований головного мозга у большинства пациентов на 3 сутки наблюдалось начало разрешения

параорбитального отёка, а у 100% больных, получавших озонотерапию - к 4 суткам.

**Ключевые слова:** озонированный физиологический раствор, озонотерапия, опухоли головного мозга, послеоперационный период

Большое число больных с новообразованиями центральной нервной системы (ЦНС) в разных странах, а также непрерывное совершенствование методов нейрохирургической диагностики, развитие нейроанестезиологии и нейрореаниматологии, расширение возможностей оперативных вмешательств на ранее недоступных структурах мозга делают все более актуальной проблему лечения больных с данной патологией [2, 3, 6, 7].

Успешное решение проблем диагностики и тактики лечения этого контингента больных во многом определяется биологическими особенностями опухолей ЦНС [2, 3, 11]. Несмотря на многообразие теорий онкогенеза, все они сходятся в одном: опухолевый процесс составляют собственные клетки организма, более стремительно развивающиеся по сравнению с окружающими тканями, используя при этом все доступные ресурсы. В силу более высокой мобильности их генома, клетки новообразований способны приспосабливаться к меняющимся условиям обмена веществ, получая при этом значительные преимущества перед здоровыми тканями, вызывая их дисфункцию и дальнейшую деструкцию [7, 9, 10].

Помимо локального деструктивного действия продукты опухолевого метаболизма, а также продукты метаболизма перифокальных тканей, находящихся в состоянии компрессии онкопроцессом, оказывают негативное дистантное действие на системы естественной детоксикации организма [2, 6, 11].

Ещё до момента хирургического вмешательства у больных, имеющих новообразования головного мозга, развивается комплекс морфофункциональных нарушений, затрагивающих не только поражённый орган, но и системы, находящиеся на удалении от неоплазий [2, 3].

Наиболее серьёзные осложнения возникают в острый послеоперационный период, то есть, в первые 10-14 дней, и, особенно, в первые 3-5 дней после операции [2, 3, 6, 11].

Успешное применение эфферентных методов терапии у данной категории больных с целью профилактики осложнений раннего послеоперационного периода отмечалось в литературе [3, 11]. Однако, на наш взгляд, озонотерапия обладает большим, спектром терапевтического действия (детоксицирующее, антигипоксическое, антиоксидантное, антимикробное и иммунокорректирующее), чем другие известные эфферентные технологии [7, 8, 12]. Помимо этого, данный метод терапии, отличается простотой использования, высокой эффективностью, хорошей переносимостью, экономичностью и может применяться как самостоятельно,

так и в сочетании с другими медикаментозными и немедикаментозными лечебными средствами, потенцируя их действие [1, 4, 5, 7-9, 12].

**Цель исследования** - обосновать применение внутривенных инфузий озонированного физиологического раствора в комплексе лечения послеоперационного периода больных после удаления новообразований головного мозга (ГМ).

### **Материал и методы исследования**

Настоящее исследование основано на анализе результатов лечения 98 больных с опухолями ГМ, находившихся в отделении реанимации и нейрохирургических отделениях Межрегионального нейрохирургического центра и обследования 30 доноров отделения переливания крови МЛПУ больница №39 (г. Нижний Новгород).

Доноры составили контрольную группу, а больные - четыре исследуемые группы. У доноров на основании клинического и лабораторного исследования, а также обследования по оригинальной методике новообразований ГМ выявлено не было.

Исследуемые группы составили:

- 51 больной (из них у 25 пациентов в результате послеоперационного морфологического исследования были выявлены новообразования доброкачественного характера - 1 группа, у 26 - злокачественного характера - 3 группа), которым после удаления новообразований ГМ проводилась традиционная интенсивная терапия;

- 47 больных, которым в комплекс традиционных методов интенсивной терапии послеоперационного периода были включены внутривенные инфузии озонированного физиологического раствора (из них у 23 пациентов в результате послеоперационного морфологического исследования были выявлены новообразования доброкачественного характера - 2 группа и у 24 больных - злокачественного характера - 4 группа).

Возрастной диапазон больных находился в пределах от 16 до 64 лет, большую часть составили больные в возрасте 47-56 лет. Мужчины и женщины представлены в группах в соотношении 42% и 58%.

Диагностика новообразований ГМ производилась:

- в предоперационном периоде на основании клинического обследования, рентгеноконтрастной ангиографии, компьютерной и магнитно-резонансной томографии, на основании разработанного нами способа диагностики новообразований головного мозга (патент РФ № 2253869).

- в послеоперационном периоде на основании микроскопии биоптатов тканей головного мозга;

Морфологическая классификация новообразований ГМ производилась в соответствии с МКБ-Х [11].

Периоперационное лечение больных производилось в три этапа: предоперационная подготовка, оперативное лечение, послеоперационная терапия. В послеоперационном периоде использовали технологию

интравенозной инфузии озонированного физиологического раствора (ОФР).

Приготовление и применение озонированного физиологического раствора проводили в соответствии с методическими рекомендациями Минздрава РФ “Техника озонотерапии” (1996). Озоно-кислородную смесь синтезировали генератором “Озон М-50” (г. Киров), затем озоно-кислородной газовой смесью осуществляли барботаж физиологического раствора хлорида натрия объемом 200 мл. Концентрация озона на выходе из озонатора составляла 10 мг/л, время барботажа - 40 минут. Концентрация озона в физиологическом растворе составляла 1,2-1,5 мг/л.

ОФР для парентерального применения готовили непосредственно перед его инфузией. Озонотерапию начинали в первые сутки после операции. Введение ОФР осуществляли ежедневно утром в катетер, установленный по методике Сельдингера. Нами были проведены исследования о влиянии скорости инфузии на развитие цефалгий, результаты которых представлены в данной работе. Объём суточных инфузий составлял 200 мл. Продолжительность курса озонотерапии 4-5 дней в зависимости от уровня эндотоксикоза.

Концентрацию озона в физиологическом растворе рассчитывали, руководствуясь данными, опубликованными Г.А. Бояриновым с соавт. (2000, 2002) [4, 5].

Комплексное исследование функционально-биохимических показателей крови выполняли до оперативного лечения, в первые, третьи, пятые сутки послеоперационного периода. Забор проб артериальной и смешанной венозной крови производили утром натощак. Артериальную кровь получали, пунктируя бедренную артерию, венозную кровь - из катетера, проведённого через подключичную вену в правое предсердие. Гепаринизацию крови проводили из расчета 0,01 мл гепарина на 100 мл крови.

### **Результаты**

Из многообразия неврологической симптоматики, наблюдавшейся у больных после удаления новообразований ГМ, нами был выбран один из наиболее распространённых симптомов у данной категории больных - время начала разрешения отёка мягких тканей области головы, в частности, отёка параорбитальной клетчатки.

Послеоперационный отёк параорбитальной клетчатки у больных после удаления новообразований ГМ формируется к исходу первых суток после хирургической инвазии. Началом разрешения отёка мягких тканей мы считали время, когда без приложения физических усилий для осуществления доступа к главному яблоку больного можно было вызвать роговичный рефлекс.

Результаты исследования динамики данного симптома представлены в таблице 1. Из данной таблицы видно, что у больных с новообразованиями ГМ в 1 сутки после оперативного лечения новообразований ГМ происходило формирование отёка мягких тканей области головы. На фоне традиционной терапии во 2 сутки отёчность параорбитальной клетчатки достигал

наибольшей степени выраженности. В этот период у большинства пациентов отёчность верхнего и нижнего век не позволяли увидеть глазное яблоко, не прилагая определённых усилий. У небольшого количества пациентов отёчная напряжённость кожи параорбитальной области, объём параорбитальной клетчатки начинал уменьшаться на 3 сутки после оперативного лечения. Несмотря на проводимую дегидратационную терапию у больных 1 и 3 групп мягкие ткани области головы у большей части больных оставались отёчными до 4 суток. Только на 5 сутки после удаления новообразований ГМ у 100% больных наблюдалось начало разрешения отёчности параорбитальной клетчатки. Время начала разрешения периорбитального отёка, практически, не зависело от морфологической структуры неоплазий ГМ.

Таблица 1. Начало разрешения параорбитального отёка мягких тканей головы в послеоперационном периоде у нейроонкологических больных

Группа пациентов	Послеоперационный период, сутки				
	1	2	3	4	5
1	Формирование отека	0	2(9)	0	3(13)
2		4(16)	14(61)	3(12)	16(67)
3		15(60)	7(30)	18(69)	5(20)
4		6(24)	0	5(19)	0

*Примечание:* указано количество больных (доля от состава группы, %)

Применение озонотерапии в комплексе лечения раннего послеоперационного периода у нейроонкологических больных позволило значительно сократить время начала разрешения параорбитального отёка мягких тканей (рис. 1).

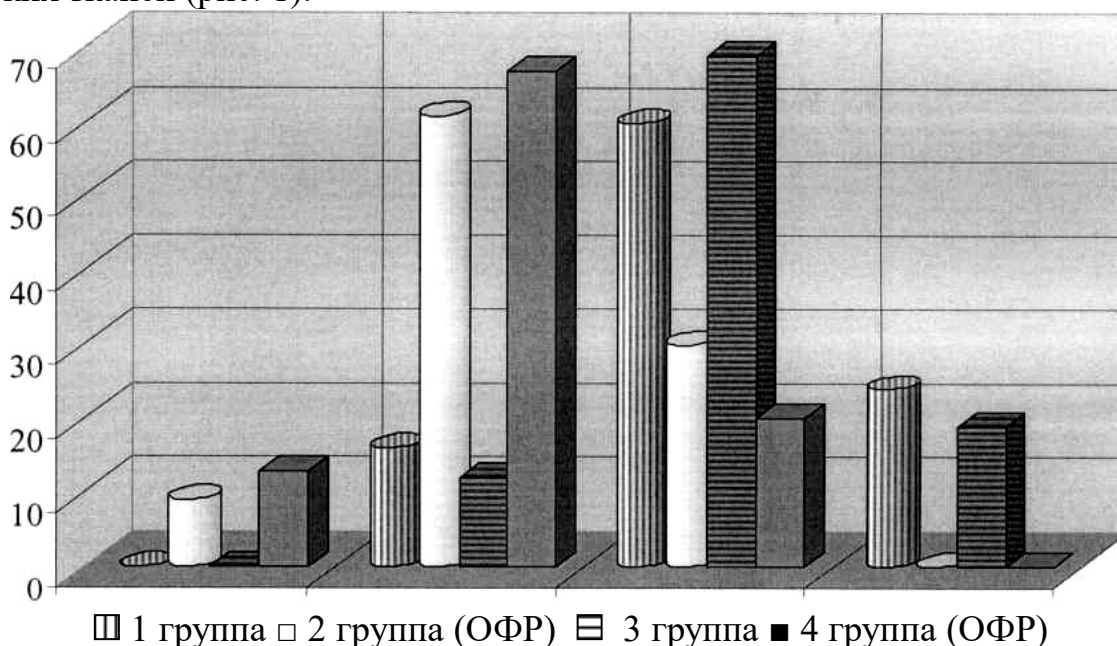


Рис. 1. Динамика разрешения параорбитального отёка в послеоперационном периоде у больных с новообразованиями ГМ

Так, на 2 сутки послеоперационного периода фоне озонотерапии у 9 % больных 2 группы и у 13 % пациентов 4 группы уже определялось начало разрешения параорбитального отёка. При этом отёчность мягких тканей у пациентов 1 и 3 групп на фоне традиционного лечения послеоперационного периода оставалась без динамики (рис. 1).

Основным периодом начала разрешения параорбитального отёка следует считать 3 и 4 сутки после резекции новообразований ГМ. При этом на 3 сутки большую часть больных, у которых регистрировался исследуемый симптом, составляли пациенты, получавшие озонотерапию в комплексе послеоперационного лечения. На 4 сутки начало разрешения параорбитального отёка наблюдалось у 100% пациентов, получавших озонотерапию в послеоперационном периоде, у 76% больных с доброкачественными новообразованиями ГМ и у 81% больных со злокачественными новообразованиями ГМ, получавшими традиционную терапию послеоперационного периода. На 5 сутки описываемая симптоматика наблюдалась только в наиболее тяжелых случаях у больных, получавших традиционную терапию.

Проведённое исследование показало, что в послеоперационном периоде у больных, получавших традиционную терапию, параорбитальные отёки мягких тканей области головы были более устойчивы к лечению, чем таковые у пациентов в комплекс послеоперационного лечения которых была включена озонотерапия: применение озонотерапии в комплексе лечения послеоперационного периода у нейроонкологических больных приводила к более раннему разрешению отёка мягких тканей области головы.

В период после удаления неоплазий ГМ во время проведения инфузионной терапии нами было отмечено, что при повышении скорости введения растворов у ряда больных появлялись постоянные разлитые головные боли, усиливающиеся при увеличении скорости инфузии и ослабевающие при её снижении. Поскольку период полураспада озона в 0,9% растворе NaCl невелик, а суммарная доза озона, введённого больному, напрямую зависит от скорости введения ОФР нами было проведено исследование зависимости возникновения головных болей у пациентов от скорости внутривенных инфузий ОФР (2 и 4 группы) и 0,9 % раствора NaCl (1 и 3 группы, табл. 2, рис. 2).

Данные таблицы 2 показывают, что проводимая после удаления новообразований ГМ инфузионная терапия у большинства пациентов не являлась причиной возникновения головных болей во время введения ОФР или 0,9% раствора NaCl. Помимо этого, не оказала достоверного влияния на возникновение интраинфузионных цефалгий морфологическая структура неоплазий ГМ: у большинства пациентов с разной морфоструктурой неоплазий ГМ и одинаковой программой лечения послеоперационного периода появление головных болей не подтверждалось критерием знаков.

Таблица 2. Частота возникновения цефалгии в зависимости от скорости инфузии ОФР или 0,9% раствора NaCl

Группа исследования		Скорость инфузии, мл/кг*мин					Итого в группе	Зст.
		0,12	0,14	0,16	0,18	0,20		
1 группа	Количество больных	5	7	6	4	3	25	18
	Возникновение цефалгии	нет	нет	1	2	3	6	
2 группа (ОФР)	Количество больных	4	6	5	5	3	23	17
	Возникновение цефалгии	нет	нет	1	2	2	5	
3 группа	Количество больных	5	6	6	5	4	26	19
	Возникновение цефалгии	нет	нет	1	2	3	6	
4 группа (ОФР)	Количество больных	5	6	6	4	3	24	18
	Возникновение цефалгии	нет	нет	1	1	3	4	
Всего больных (a+b)		19 (10+9)	25 (13+12)	23 (12+11)	18 (9+9)	13 (7+6)	98 (51+47)	
Возникновение цефалгии (a+b)		0	0	4 (2+2)	7 (4+3)	11 (6+5)	21 (12+9)	
Критические значения знаков, Зст. (a/b)		15 (9/8)	18 (11/10)	17 (10/10)	14 (8/8)	11 (7/6)	60 (33/31)	

*Примечание:* Критические значения знаков для уровня значимости 5%; а - показатели больных со стандартной терапией послеоперационного периода; b - показатели больных с стандартной терапией и озонотерапией послеоперационного периода

Фактором, оказавшим достоверное влияние на возникновение интраинфузионной цефалгии, была скорость введения растворов (табл. 2). При скорости инфузии раствора 0,12-0,14 мл/(кг\*мин) констатировалось достоверное отсутствие во всех группах больных интраинфузионной цефалгии. После увеличения скорости инфузии от 0,16 мл/(кг\*мин) до 0,18

мл/(кг\*мин) появление головных болей во время введения растворов так же, как и отсутствие оной недостоверны. Достоверное появление головных болей во время инфузии ОФР или 0,9% раствора NaCl отмечалось при скорости 0,2 мл/(кг\*мин) и более.

Анализ полученных результатов показал, что основным фактором, определяющим частоту возникновения болевого синдрома во время инфузионной терапии у больных, находящихся в состоянии после резекции новообразований ГМ, была скорость введения лекарственных растворов.

Результаты исследования зависимости частоты возникновения интраинфузионной цефалгии у больных после удаления новообразований ГМ представлены на рисунке 2.

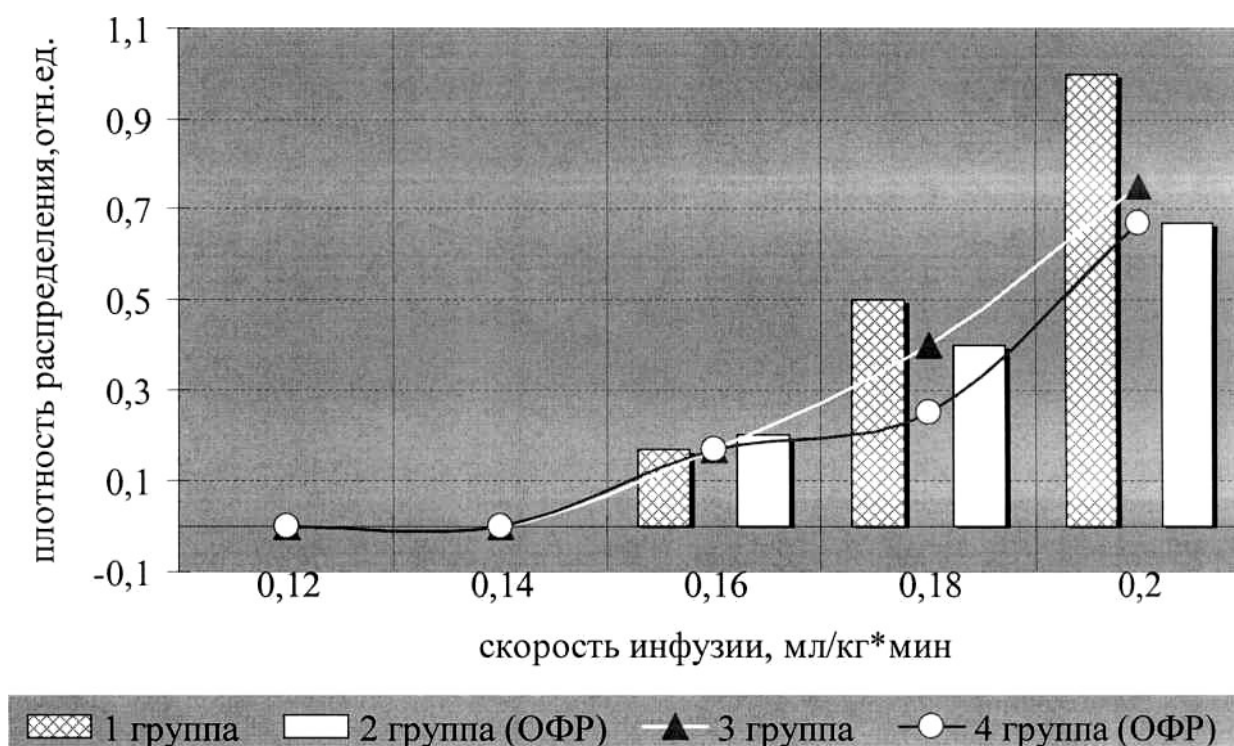


Рис. 2. Частота появления интраинфузионной цефалгии в послеоперационном периоде после удаления неоплазий ГМ

Сопоставляя вес больных и продолжительность введения растворов, мы определили, что при скорости инфузии растворов меньше 0,14 мл/(кг\*мин) ни у одного из пациентов цефалгия не развивалась. Увеличение скорости инфузии изотонических растворов до 0,16-0,18 мл/(кг\*мин) сопровождалось появлением головных болей у 35-50 % нейроонкологических больных. Повышение скорости внутривенного введения 0,9 % растворов NaCl (озонированного и неозонированного) до 0,2 мл/(кг\*мин) вызывало появление головных болей у 67-95 % больных с новообразованиями ГМ.

Анализ клинических проявлений действия озонотерапии у нейроонкологических больных показал, что: одним из наиболее выраженных клинических эффектов действия озонотерапии у нейроонкологических

больных было ранее по сравнению с пациентами, получавшими традиционную терапию, отёчности мягких тканей области лица; выраженность противоотёчного действия ОФР не зависит от морфологии новообразований ГМ; независимо от морфологической структуры новообразований ГМ, оптимальной скоростью внутривенных инфузий ОФР или 0,9% раствора NaCl является 0,12-0,14 мл/(кг\*мин).

#### **Заключение**

Установлено, что применение озонотерапии в комплексе послеоперационного лечения нейроонкологических больных позволяет значительно повысить противоотёчный эффект проводимой терапии: независимо от морфологического строения новообразований ГМ у большинства пациентов на 3 сутки наблюдалось начало разрешения параорбитального отёка, а у 100% больных, получавших озонотерапию - к 4 суткам. Также нами показано, что включение озонотерапии в комплекс послеоперационного лечения больных с неоплазиями ГМ позволяет снизить уровень эндогенной интоксикации, улучшить доставку и утилизацию кислорода тканями, активизировать процессы аэробного окисления, повысить эффективность противоотёчной терапии.

#### **Список литературы**

1. Алясова А.В., Конторщикова К.Н., Терентьев И.Г. с соавт. Озонотерапия в комплексном и комбинированном лечении злокачественных опухолей // Тез. докл. IV Всероссийской научно-практической конференции «Озон и методы эфферентной терапии в медицине». Нижний Новгород. 2000. С. 114-115.
2. Амчеславский В.Г., Брагина Н.Н., Доброхотова Т.А. с соавт. Водно-электролитные нарушения в клинике послеоперационного периода при опухолях базально-диэнцефальной локализации // Вопросы нейрохирургии. 2002. №2. С. 39-43.
3. Афанасенков М.И. Применение в послеоперационный период дегидратирующих средств в зависимости от функционального состояния почек у больных с опухолями полушарий большого мозга // Нейрохирургия. 1988. №21. С. 32-34.
4. Бояринов Г.А., Горячев М.Е., Бричкин Ю.Д. с соавт. Озонотерапия как метод детоксикации у онкологических больных при проведении общей гипертермии // Тез. докл. IV Всеросс. научно-практической конференции «Озон и методы эфферентной терапии в медицине». Нижний Новгород, 2000. С. 113-114.
5. Бояринов Г.А., Перетягин С.П., Горбунов С.Н. с соавт. Озонотерапия боевой хирургической травмы. Н.Новгород. 2002. 3 с.
6. Вирозуб И.Д. Изучение внутричерепного давления у больных с органическими поражениями головного мозга в острый послеоперационный период // Нейрохирургия. 1988. №21. С.13-17.

7. Густов А.В., Котов С.А. Озонотерапия в неврологии. Н. Новгород: Литера, 1999. 179 с.

8. Идов И.Э. Аспекты применения озона в медицине // Анестезиология и реаниматология. 1997. №1. С. 90-93.

9. Конторщикова К.Н. Перекисное окисление липидов в норме и патологии. Нижний Новгород. 2000. С. 19-23.

10. Малахова М.Я. Эндогенная интоксикация как отражение компенсаторной перестройки обменных процессов в организме // Эфферентная терапия. 2000. Т.4, №4. С. 3-14.

11. Сергиенко Т.М., Спасиченко П.В., Верхоглядов Ю.П. соавт. Диагностика и лечение отека и набухания мозга в острый послеоперационный период // Нейрохирургия. 1988. №21. С. 40-45.

12. Menendes S. Biochemical Mechanisms present in medical ozone applications // 2nd International Symposium on Ozone Applications. Abstracts. Havana. Cuba. 1997. P. 15.

# СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЗДОРОВЫХ КРЫС В ДИНАМИКЕ ИНГАЛЯЦИЙ СИНГЛЕТНОГО КИСЛОРОДА И ОЗОНА

А.А. Мартусевич

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

## **Abstract**

The aim of this work was to study the dynamics of hematological parameters of healthy rats during inhalation with various active forms of oxygen in the experiment. The experiment was performed on 60 male Wistar rats (body weight 200-250 g). Four groups of animals of equal size were formed: intact group (n=15), including animals, which did not perform any manipulations; 3 experimental groups (n=15 in each), animals of which received singlet oxygen inhalations (at generator power of 50 and 100%) or oxygen-ozone mixture (ozone concentration – 60 µg/l). The course of inhalations included 10 sessions of 10 minutes each, held daily. Singlet-oxygen gas mixture was obtained by singlet oxygen generator "Airnergy Professional plus" (Germany). Oxygen-ozone mixture was generated on the ozonator "Medozons BM" (Russia). For the experiments used a concentration of 60 µg/L. To obtain the oxygen-ozone mixture and of the study of the effects of oxygen used purified medical oxygen. Changes in hematological parameters were registered on the hematological analyzer "ABBOTT Cell-Dyn 3700" (Great Britain).

Analysis of the effect of inhalation of reactive oxygen species on hematological parameters allowed to establish the absence of a significant effect of singlet-oxygen mixture (for both studied modes of operation of the generator) on them, and the use of ozone-oxygen mixture recorded adaptive changes of the leukocyte level and eritrea due to hyperoxia and development of physiological stress response to a given forcing.

**Key words:** singlet oxygen, ozone

Целью данного исследования явилось исследование динамики гематологических показателей здоровых крыс при ингаляциях различными активными формами кислорода в эксперименте. Эксперимент выполнен на 60 крысах-самцах линии Вистар (масса тела 200-250 г). Было сформировано 4 группы животных равной численности: интактная группа (n=15), включающая животных, которым не выполняли никаких манипуляций; 3 экспериментальные группы (n=15 в каждой), животные из которых получали ингаляции синглетного кислорода (при мощности генератора 50 и 100%) или кислородно-озоновой смеси (концентрация озона – 60 мкг/л). Курс

ингаляций включал 10 сеансов продолжительностью 10 минут каждый, проводимых ежедневно. Синглетно-кислородную газовую смесь получали с помощью генератора синглетного кислорода «Airnergy Professional plus» (Германия). Кислородно-озоновую смесь генерировали на озонаторе «Медозонс ВМ» (Россия). Для экспериментов использовали концентрацию 60 мкг/л. Для получения кислородно-озоновой смеси и исследования эффектов озона применяли очищенный медицинский кислород. Изменение гематологических параметров регистрировали на гематологическом анализаторе «ABBOTT Cell-Dyn 3700» (Великобритания).

Анализ влияния ингаляций активных форм кислорода на гематологические показатели позволил установить отсутствие значимого влияния синглетно-кислородной смеси (при обоих изучаемых режимах работы генератора) на них, а, напротив, при использовании озон-кислородной смеси фиксировали адаптивные перестройки лейкоцитарного звена и эритронов, обусловленные гипероксией и развитием физиологического стресс-ответа на данное воздействие.

**Ключевые слова:** синглетный кислород, озон

Известно, что накопление в клетках продуктов перекисного окисления липидов является компонентом патогенеза многих заболеваний [1, 2, 4]. С другой стороны, протекание процессов липопероксидации служит важным звеном обновления клеточных мембран и средством обеспечения их пластичности [2-4, 6]. В связи с этим, нормализация баланса в системе «прооксиданты - антиоксиданты» рассматривается как необходимый фактор поддержания гомеостаза на организменном уровне. Этому способствуют различные лечебные технологии, предусматривающие системное или локальное применение активных форм кислорода (АФК) [6, 7]. В настоящее время наибольшее распространение получила озонотерапия, причем превалирует ее системное применение (введение озонированного физиологического раствора) [7]. В то же время эффективность использования других вариантов введения в организм активных форм кислорода, в том числе ингаляционного, изучена недостаточно полно. Следует отметить, что ингаляционное воздействие оказывает как местный, так системный эффект.

С учетом того, что ингаляционная терапия вызывает реакцию со стороны системы крови, логично предположить, что применение АФК в газовой фазе будет способствовать изменению гематологических показателей. Подтверждением этого тезиса может служить то, что контроль лечебного и/или токсического эффекта различных соединений в качестве обязательного компонента включает изучение изменений в системе крови.

В связи с вышеперечисленным, **целью** данного исследования явилось исследование динамики гематологических показателей здоровых крыс при ингаляциях различными активными формами кислорода в эксперименте.

### **Материал и методы исследования**

Эксперимент выполнен на 60 крысах-самцах линии Вистар (масса тела 200-250 г). Было сформировано 4 группы животных равной численности: интактная группа (n=15), включающая животных, которым не выполняли никаких манипуляций; 3 экспериментальные группы (n=15 в каждой), животные из которых получали ингаляции синглетного кислорода (при мощности генератора 50 и 100%) или кислородно-озоновой смеси (концентрация озона – 60 мкг/л). Для проведения ингаляций животных (по одному) помещали в эксикатор, в котором осуществляли подачу и отведение газовых смесей. Курс ингаляций включал 10 сеансов продолжительностью 10 минут каждый, проводимых ежедневно. Выведение животных из эксперимента производили путем декапитации под наркозом на следующий день после завершения полного курса ингаляций.

Синглетно-кислородную газовую смесь получали с помощью генератора синглетного кислорода «Airnergy Professional plus» (Германия). Данный прибор имеет два основных режима работы, соответствующие мощности 50 и 100%.

Кислородно-озоновую смесь с концентрацией 60 мкг/л генерировали на озонаторе «Медозонс ВМ» (Россия) из очищенного медицинского кислорода.

Для оценки общих сдвигов состояния форменных элементов системы крови при рассматриваемых воздействиях изучали динамику содержания эритроцитов и лейкоцитов в биологической жидкости, а также уровень гематокрита и концентрацию гемоглобина. Все указанные показатели регистрировали на гематологическом анализаторе «ABBOTT Cell-Dyn 3700» (Великобритания).

Фактический материал, полученный при проведении исследований у всех изученных групп животных, был обработан методом вариационной статистики (Тюрин Ю. Н., Макаров А. А., 1998; Наследов А. Д., 2004). Вычисляли средние величины (M), их стандартную ошибку (m) и среднеквадратическое отклонение ( $\sigma$ ). Показатели считались достоверными при значениях  $p < 0,05$  (по t-критерию Стьюдента и U-критерия Манна-Уитни).

Расчеты выполнялись в электронных таблицах Microsoft Excel 2007, а также с помощью программ Primer of biostatistics 4.03 и SPSS 11.0.

### **Результаты и их обсуждение**

Проведенные гематологические исследования позволили установить, что все тестируемые факторы не оказывают значимого влияния на количество эритроцитов в периферической крови (рис. 1). Это дает возможность исключить гематоксическое либо гемолитическое действие рассматриваемых активных форм кислорода (озона, синглетного кислорода и их интермедиатов) в отношении эритроцитов.

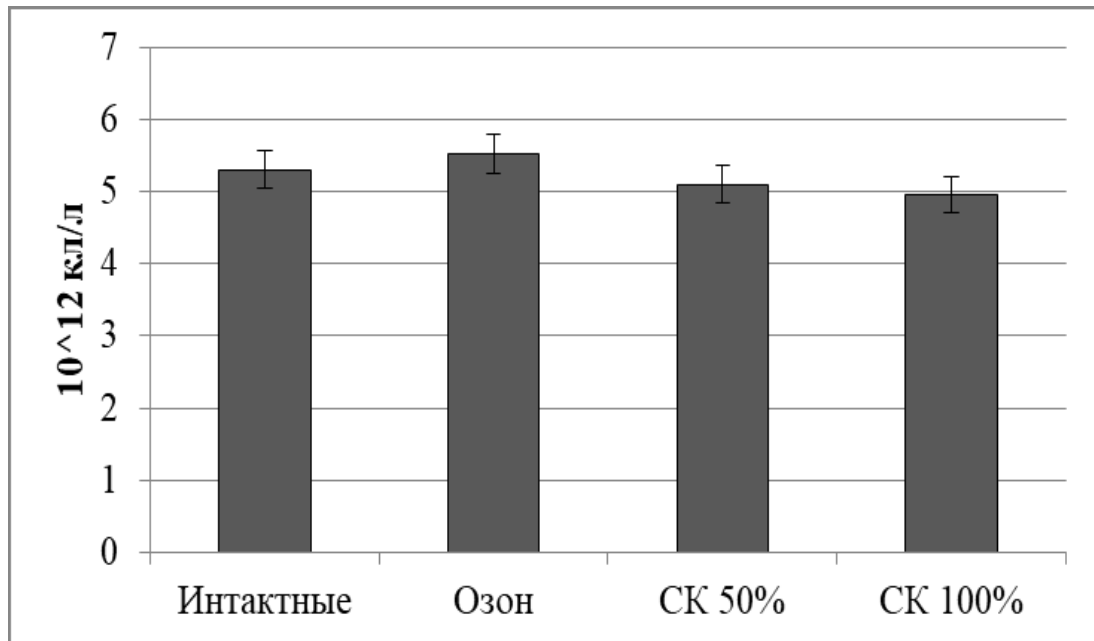


Рис. 1. Содержание эритроцитов в крови крыс при различных ингаляционных воздействиях (СК – синглетный кислород, применяемая мощность генератора указана в %; «\*» - уровень статистической значимости различий по отношению к интактным животным  $p < 0,05$ ; данные приведены в % от уровня, выявленного для интактных крыс, принятого за 100%)

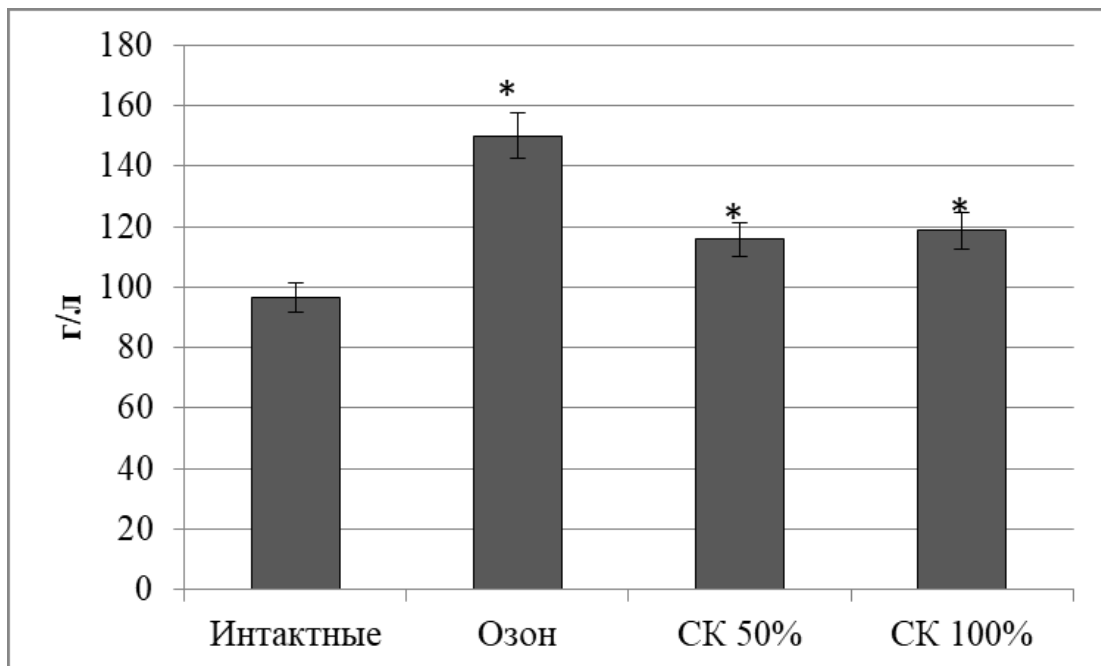


Рис. 2. Уровень гемоглобина в крови крыс при различных ингаляционных воздействиях (СК – синглетный кислород, применяемая мощность генератора указана в %; «\*» - уровень статистической значимости различий по отношению к интактным животным  $p < 0,05$ ; данные приведены в % от уровня, выявленного для интактных крыс, принятого за 100%)

При этом более детальный анализ состояния эритрона, касающийся выполнения им основной функции – транспорта газов, был проведен путем оценки уровня гемоглобина в крови крыс (рис. 2). Обнаружено, что все изучаемые ингаляционные воздействия способствуют увеличению значения по данному критерию, однако степень выраженности подобного эффекта неодинакова. Так, применение озono-кислородной смеси, значительно повышающее кислородообеспечение крови [7], компенсаторно приводит к максимальному повышению концентрации гемоглобина (на 55,5% по сравнению с интактными животными;  $p < 0,05$ ) и, следовательно, к формированию умеренной гиперхромии эритроцитов.

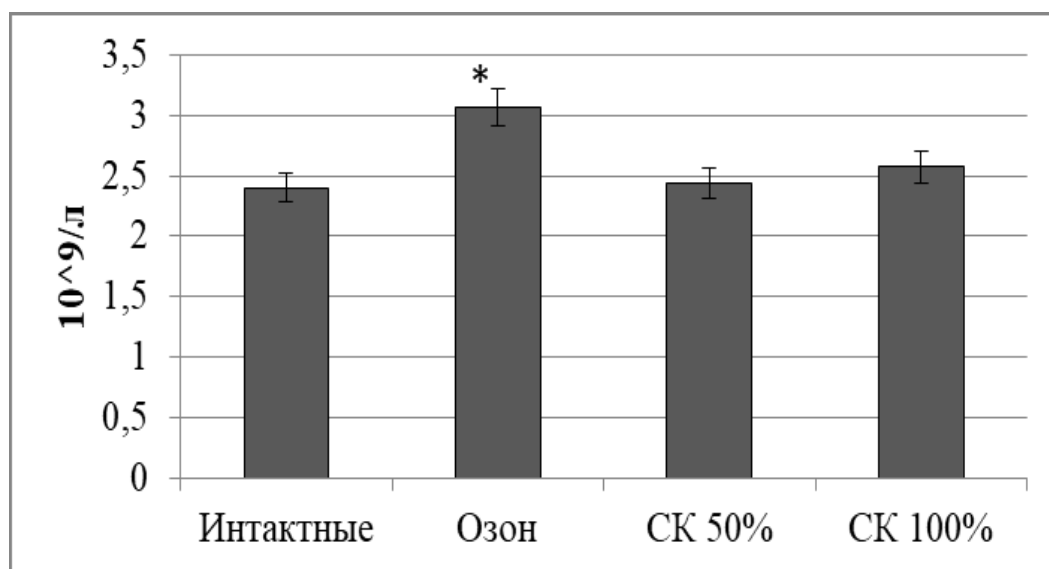


Рис. 3. Содержание лейкоцитов в крови крыс при различных ингаляционных воздействиях (СК – синглетный кислород, применяемая мощность генератора указана в %; «\*» - уровень статистической значимости различий по отношению к интактным животным  $p < 0,05$ ; данные приведены в % от уровня, выявленного для интактных крыс, принятого за 100%)

Другие ингаляционные воздействия, связанные с генерацией в газовом потоке синглетного кислорода при двух мощностях аппарата (50 и 100%), также обнаруживают небольшое повышение уровня гемоглобина (на 20,0 и 23,1% относительно крыс, с которыми не проводили никаких манипуляций;  $p < 0,05$  для обоих случаев), но эти сдвиги не вызывают развития явлений гиперхромии вследствие сохранения данных колебаний соотношения «количество эритроцитов – концентрация гемоглобина в них» в физиологических пределах. Это может быть связано с тем, что при генерации синглетного кислорода, получаемого из воздуха, не происходит обогащение газового потока дополнительным количеством кислорода, а в указанном процессе принимают участие лишь исходно содержащиеся в нем молекулы соединения, которых в 5 раз меньше, чем в чистом кислороде.

Наряду с эритроцитами, оценка характера гематологических сдвигов при системном (ингаляционном) действии активных форм кислорода включала анализ содержания в крови лейкоцитов (рис. 3). Установлено, что лишь применение озono-кислородной смеси вызывало развитие умеренных сдвигов их концентрации, заключавшихся в повышении уровня показателя на 27,5% относительно животных интактной группы ( $p < 0,05$ ). В то же время даже у представителей группы, получавшей стандартную для ингаляций концентрацию озона в воздушном потоке, количество лейкоцитов оставалось в пределах физиологических значений, что свидетельствует об адаптивности зафиксированных сдвигов. Это, в частности, потенциально связано с формированием стресс-перестройки лейкоцитарной формулы, что не оценивалось детально в рамках настоящей работы.

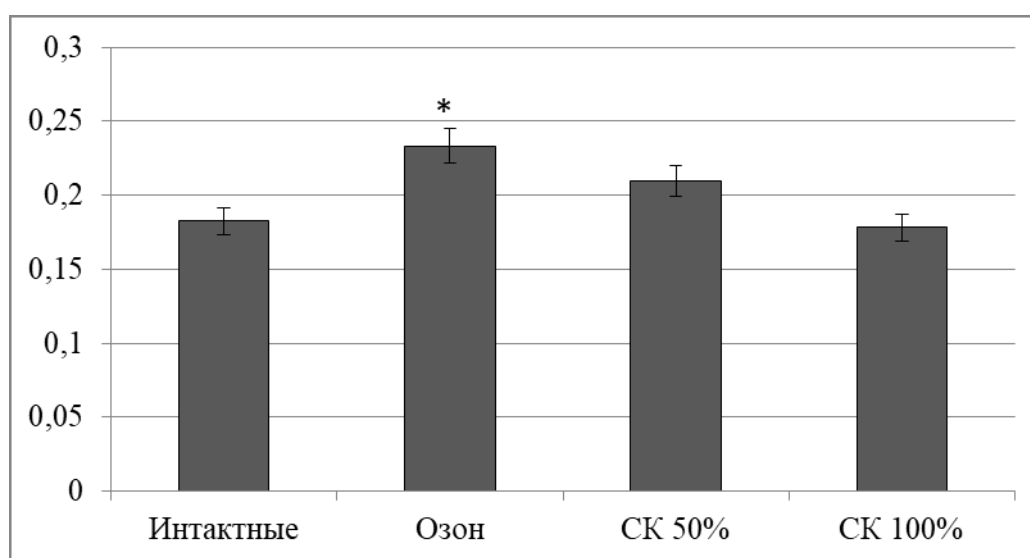


Рис. 4. Показатель гематокрита крови крыс при различных ингаляционных воздействиях (СК – синглетный кислород, применяемая мощность генератора указана в %; «\*» - уровень статистической значимости различий по отношению к интактным животным  $p < 0,05$ ; данные приведены в % от уровня, выявленного для интактных крыс, принятого за 100%)

Приведенные выше данные об адаптивной трансформации состояния эритрона и лейкоцитарного звена системы крови предопределили соответствующие им изменения уровня гематокрита (рис. 4).

Они реализовались в отсутствии существенных сдвигов уровня показателя по завершении полного курса ингаляций синглетно-кислородной газовой смеси при обоих тестируемых режимах работы генератора, однако характеризовались умеренным повышением гематокрита у крыс, получавших в качестве активной формы кислорода озон в концентрации 60 мкг/л (на 27,9% по сравнению с животными интактной группы;  $p < 0,05$ ). Также следует отметить, что даже обнаруженное увеличение значения параметра не выводило его за пределы физиологического диапазона.

### Заключение

В целом, анализ влияния ингаляций активных форм кислорода на гематологические показатели позволил установить отсутствие значимого действия синглетно-кислородной смеси (при обоих изучаемых режимах работы генератора) на них, а при использовании озono-кислородной смеси фиксировали адаптивные перестройки лейкоцитарного звена и эритрона, обусловленные гипероксией и развитием физиологического стресс-ответа на данное воздействие.

### Список литературы

1. Болдырев А.А., Юнева М.О., Сорокина Е.В. с соавт. Антиоксидантные системы в тканях мышей с ускоренным темпом старения (SAM, Senescence Accelerated Mice) // Биохимия. 2001. Vol. 66. С. 1157-1163.
2. Костюк В. А., Потапович А. И. Биорадикалы и биоантиоксиданты. Минск: БГУ, 2004.
3. Мартусевич А.А., Перетягин С.П., Мартусевич А.К. Молекулярные и клеточные механизмы действия синглетного кислорода на биосистемы // Современные технологии в медицине. 2012. №2. С. 128-134.
4. Мартусевич А.К., Карузин К.А. Оксидативный стресс и его роль в формировании дизадаптации и патологии // Биорадикалы и антиоксиданты. 2015. Т. 2, №2. С. 5-18.
5. Наследов А.Д. Математические методы психологического исследования. Анализ и интерпретация данных. Учебное пособие. СПб.: Речь, 2004. 392 с.
6. Перетягин С.П., Мартусевич А.К., Ванин А.Ф. Молекулярно-клеточные механизмы трансформации гомеостаза биосистем активными формами кислорода и азота // Медицинский альманах. 2013. №3. С. 80-81.
7. Перетягин С.П., Стручков А.А., Мартусевич А.К., Костина О.В., Лузан А.С. Применение озона как средства детоксикации в раннем периоде ожоговой болезни // Скорая медицинская помощь. 2011. Т. 12, №3. С. 39-43.
8. Тюрин Ю.Н., Макаров А.А. Статистический анализ данных на компьютере / Под ред. В. Э. Фигурнова. М.: ИНФРА-М, 1998. 528 с.

## ПРОТИВОМИКРОБНЫЕ И РЕПАРАТИВНЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ГЕЛЯ, СОДЕРЖАЩЕГО ПИРИМИДИНОВЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ, НАТРИЯ СУКЦИНАТ И АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ СРЕДСТВА, ПРИ МЕСТНОМ ЛЕЧЕНИИ ОЖОГОВЫХ РАН

А.А. Стручков, Р.А. Соколов, Н.А. Гординская,

Н.Б. Мельникова, И.Е. Погодин

*ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет»*

*Минздрава России, Нижний Новгород*

### **Abstract**

The aim of this work was to study the effectiveness of the use of gel containing pyrimidine derivatives, sodium succinate and antibacterial agents for local targeting of burn wounds. Studies were performed in 66 patients aged 18 to 65 years, with burns II-III degree area of 9% to 70% of the body surface. For the local treatment of burn wounds of persons of the main group used the gel "Levoxim" containing 8,0 mass.% of xymedon, 2,0 mass.% levomycetinum, 1,58 mass %. sodium succinate trometamol, water. Patients of the comparison group received ointment for external use "Levomekol" (Russia). Monitoring of the wound process was carried out on the basis of visual observation, assessment of the number and nature of wound discharge, bleeding wounds, the timing of transition to another phase of the wound process, the timing of the onset of epithelization; with deep lesions – the readiness of wounds for autodermaplasty, grafting and healing of donor wounds. All patients underwent microbiological examination of the wound discharge, cytological examination of smears-prints from the surface of the control and experimental sections of the wounds before treatment, 7 and 14 days after treatment. The pain response was evaluated by patients on the intensity of pain using a special device on a 10-point scale. It was established that local treatment of purulent wounds with the use of a gel containing metabolites with reparant properties (xymedon, citrate) and antibacterial agents (levomycetinum, trometamol) proved to be more effective compared to the drug "Levomekol".

**Key words:** xymedon, levoxim, burn wounds, regeneration, antibacterial activity

Целью работы явилось изучение эффективности применения геля, содержащего пиримидиновые производные, натрия сукцинат и антибактериальные средства, для местного целения ожоговых ран. Исследования выполнены у 66 пациентов в возрасте от 18 до 65 лет, с ожогами II-IIIАБ степени площадью от 9% до 70% поверхности тела. Для

местного лечения ожоговых ран у лиц основной группы использовали гель «Левоксим», содержащий 8,0 масс.% ксимедона, 2,0 масс.% левомицетина, 1,58 масс. % натрия сукцината, трометамол, воду. Пациенты группы сравнения получали мазь для наружного применения «Левомеколь» (Россия). Контроль течения раневого процесса проводили на основе визуального наблюдения, оценки количества и характера раневого отделяемого, кровоточивости ран, сроков перехода в другую фазу раневого процесса, сроков наступления эпителизации; при глубоком поражении – готовности ран к аутодермопластике, приживлению трансплантатов и заживлению донорских ран. Всем пациентам проводили микробиологическое исследование раневого отделяемого, цитологическое исследование мазков-отпечатков с поверхности контрольных и опытных участков ран перед началом лечения, через 7 и 14 суток после начала лечения. Болевую реакцию оценивали пациенты по интенсивности болевых ощущений с помощью специального приспособления по 10-балльной шкале. Установлено, что местное лечение гнойной раны с применением геля, содержащего метаболиты с репаратными свойствами (ксимедон, цитрат) и антибактериальными средствами (левомицетин, трометамол) оказалось более эффективным по сравнению с препаратом «Левомеколь».

**Ключевые слова:** ксимедон, левоксим, ожоговые раны, регенерация, антибактериальная активность

Среди фармакологически значимых производных пиримидина известен ксимедон, который выделяется высокой клинической эффективностью при различных нозологических формах заболеваний. При этом он проявляет иммуномодулирующее, анаболическое, ангиопротективное и гипохолестеринемическое действие [3, 6, 7]. Он также ускоряет процессы регенерации тканей и сокращает сроки заживления ожоговой поверхности, улучшает приживление кожных трансплантатов при аутодермопластике [4, 9]. Способствует нормализации соотношения между содержанием фибриногена и фибринолитической активностью крови. Улучшает регионарное кровообращение, не подвергается биотрансформации, не кумулирует, обладает низкой токсичностью [2, 7, 8].

Особое значение препарат имеет в лечении вялотекущих гнойных ран у больных, страдающих сахарным диабетом, а также пролежней. При его назначении уменьшается вероятность образования келоидных рубцов. Ксимедон применяют для лечения глубоких и поверхностных ожогов, а также в период подготовки ожоговых больных к аутодермопластике и послеоперационный период [8-14].

Проведенные в последние годы клинические исследования «Ксимедона» в ведущих медицинских учреждениях РФ показали высокую эффективность препарата при лечении язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки [5], колитов, трофических язв, атеросклероза, обморожений, ран,

переломов костей, гнойных заболеваний, операций по поводу келоидных рубцов.

**Целью** работы явилось изучение эффективности применения геля, содержащего пиримидиновые производные, натрия сукцинат и антибактериальные средства, для местного лечения ожоговых ран.

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

Исследования выполнены у 66 пациентов (мужчины и женщины) в возрасте от 18 до 65 лет, с ожогами II-IIIАБ степени различной этиологии площадью от 9% до 70% поверхности тела, находившихся на стационарном лечении в отделении термической травмы Университетской клиники Приволжского исследовательского медицинского университета. Для местного лечения ожоговых ран у лиц основной группы использовали гель «Левоксим», содержащий 8,0 масс.% ксимедона, 2,0 масс.% левомецетина, 1,58 масс. % натрия сукцината, трометамол, воду. Пациенты группы сравнения получали мазь для наружного применения «Левомеколь» (Россия, рег. № 84/677/7).

Контроль течения раневого процесса проводили на основе визуального наблюдения, оценки количества и характера раневого отделяемого, кровоточивости ран, сроков перехода в другую фазу раневого процесса, сроков наступления эпителизации; при глубоком поражении – готовности ран к аутодермопластике, приживлению трансплантатов и заживлению донорских ран; всем пациентам проводили микробиологическое исследование раневого отделяемого, цитологическое исследование мазков-отпечатков с поверхности контрольных и опытных участков ран [1, 2] перед началом лечения, через 7 и 14 суток после начала лечения (если раны к этому времени не зажили). Болевую реакцию непосредственно при перевязке субъективно оценивали пациенты по интенсивности болевых ощущений с помощью специального приспособления по 10-балльной шкале, где 0 – отсутствие болевых ощущений, а 10 – максимальная по силе боль (рис. 1 и 2).

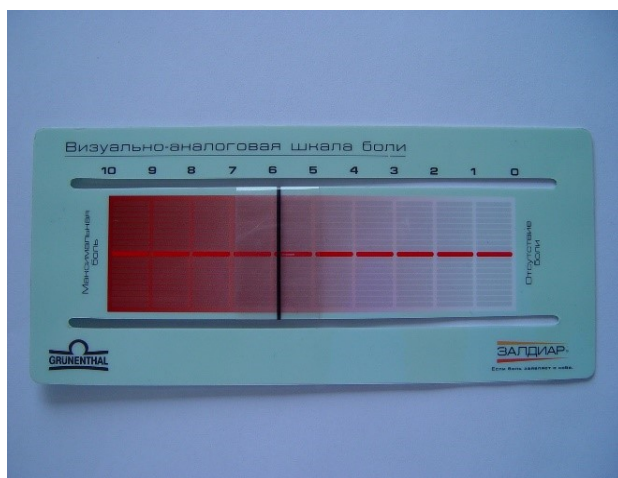


Рис. 1. Шкала ВАШ (визуально-аналоговой оценки боли), сторона 1

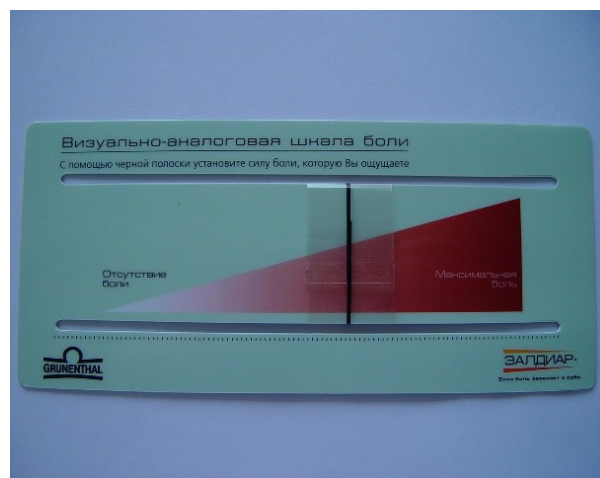


Рис. 2. Шкала ВАШ, сторона 2

Для того, чтобы исключить влияние других факторов (тяжести состояния, возраста, пола, индивидуальных особенностей проводимой комплексной терапии), сравнение проводилось с соседними участками ран, аналогичными по глубине поражения, и с усредненными показателями больных ожогового отделения, которым проводилось лечение ожоговых ран традиционными методами. Местное лечение на контрольных участках ожоговых ран проводили с применением мази «Левомеколь».

### Результаты

Лечение препаратом на гелевой основе начато в срок от 1 до 7 суток от момента получения травмы. До начала лечения ожоговые раны, после удаления отслоенного эпидермиса, представляли собой влажные поверхности розового, на отдельных участках белесоватого цвета. У пациентов, поступивших через 3-5 суток после травмы, - раны со скудным гнойным отделяемым, местами – налет фибрина, формирование очагов тонкого буроватого струпа. У 4 человек имелась зона гиперемии шириной до 3см вокруг ран, умеренный перифокальный отек (особенно на нижних конечностях). У больных из раневого отделяемого высевали *St.aureus*, *Ps.aeruginosa* и *Proteus vulgaris*. После взятия посева и тщательного туалета ран были наложены повязки с гелем «Левоксим». У 4 человек из данной группы повязки не снимали до полного заживления ран. У всех больных раны зажили без осложнений.

Таблица 1. Динамика локального статуса ожоговой раны в учетом применяемого лечения

Критерии оценки течения раневого процесса	Сроки лечения					
	1 сутки		7 сутки		14 сутки	
	1	2	1	2	1	2
боль в области ран	12 чел	12	6	3	2	0
гиперемия кожи	12	12	4	0	1	0
отек и инфильтрация	12	12	5	0	0	0
лимфангоит	7	7	3	0	0	0
регионарный лимфаденит	11	11	4	0	3	0
гнойное отделяемое	12	12	6	2	2	0
наличие в ране некроза	8	8	2	0	1	0
грануляции	0	0	8	12	12	12
краевая эпителизация	0	0	5	12	12	12

Примечание: 1 – группа сравнения, 2 – основная группа

При лечении традиционным способом купирование отека и гиперемии кожи вокруг раны отмечалось с 7-го до 13-го дня. Сроки очищения от гнойно-некротических масс на контрольных участках составляли  $14,9 \pm 0,2$  дня. Причем, на участках ран, где проводили лечение гелем Левоксим, грануляции были мелкозернистые, розовые, полнокровные, легко кровоточащие, блестящие, т.е. характеризовались как полноценная грануляционная ткань. На участках ожоговых ран, где проводили традиционное лечение, грануляции были тусклыми, бледными, вялыми, крупнозернистыми, что свидетельствовало о затяжном течении раневого процесса с тенденцией к переходу в хронический процесс. Данные, характеризующие течение раневого процесса, представлены в таблице 1.

Как следует из данных, представленных в таблице 1, в процессе лечения (в среднем уже на 7-й день от начала местного лечения с применением геля «Левоксим») пациентов перестали беспокоить болевые ощущения в области раны; отмечено значительное уменьшение гиперемии кожи; уменьшился отек окружающих рану тканей; на всех опытных участках отмечено стихание явлений лимфангоита и регионарного лимфаденита; значительно уменьшилось количество отделяемого из раны.

При лечении препаратами, содержащими ксимедон, выявлены три типа цитогрaмм: дегенеративно-воспалительный, воспалительный и регенераторно-воспалительный (табл. 2).

Дегенеративно-воспалительный тип отражает слабые признаки воспалительной реакции с содержанием большого числа нейтрофилов в состоянии дегенерации и деструкции и признаками фагоцитарной активности более сохраненных нейтрофилов.

Воспалительный тип цитогрaммы отражает последовательное, нормально протекающее, острое или подострое воспаление. Нейтрофилы в средней степени сохранности составляют 85-90%, 8-12% клеточного состава приходится на долю лимфоцитов и моноцитов, отдельных макрофагов и полибластов. Микрофлора в умеренном количестве, внутриклеточно, в состоянии завершеногo фагоцитоза.

Регенераторно-воспалительный тип характеризует собой благоприятное течение раневого процесса, при котором число нейтрофилов снижается до 60-70%, с увеличением их сохранности. Микрофлора наблюдается в небольшом количестве в состоянии активного фагоцитоза.

При цитологическом исследовании через 7 суток после начала лечения гелем «Левоксим» на опытных участках в 75% случаев был выявлен регенераторный тип реакции. Число нейтрофилов уменьшилось до 60%, сохранность их увеличилась. 30% клеток составили тканевые полибласты, а также макрофаги, увеличение числа которых до 10% характеризует процесс очищения раны.

Контрольные участки характеризуются воспалительным типом реакции, нейтрофилы в средней степени сохранности составляют 90%, 10%

клеточного состава приходится на долю лимфоцитов и моноцитов, отдельных макрофагов и полибластов.

Таблица 2. Данные цитологического исследования ожоговых ран, обработанных «Левоксимом» (группа 1) и мазью «Левомеколь» (группа 2) (n=20)

Тип цитограммы	Сроки исследования					
	До лечения		7-10 сутки		14 сутки	
	1	2	1	2	1	2
Воспалительный	25%	25%	20%	5%	5%	5%
Воспалительно-регенераторный	60%	60%	35%	20%	25%	10%
Регенераторный	15%	15%	45%	75%	70%	85%

Полученные результаты свидетельствуют, что применение в комплексе лечебных мероприятий геля Левоксим приводит к уменьшению воспалительных изменений в ране, быстрее купируется отек, рана очищается от гнойно-некротических масс, в более ранние сроки и активнее наступает фаза пролиферации – образование полноценной грануляционной ткани, ускоряется процесс эпителизации ран.

Динамика цитологической картины раневого отделяемого

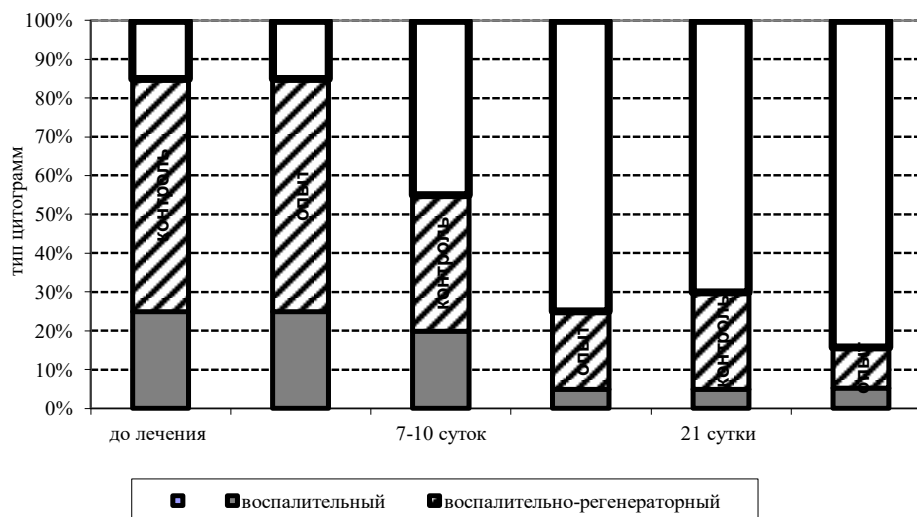


Рис. 3. Диаграмма динамики цитологической картины раневого отделяемого ожоговых ран под действием геля, содержащего репаранты (субстрат пиримидиновых оснований и цитрат) и антибактериальные компоненты (левомицетин и трометамол)

Как показано в таблице 2 и на рисунке 3, только у 15% больных до начала лечения тип цитограммы был без признаков воспалительного

процесса, у всех остальных клинические и цитологические признаки воспаления присутствовали. Применение геля с репарантами (ксимедон и янтарная кислота) к 7 суткам у большей части больных приводило к появлению признаков регенерации.

Во всех наблюдениях фагоцитоз был завершённым, с внутриклеточным содержанием поглощенных микробов, что показывало на неосложненное течение процесса заживления. Ни в одном отпечатке не было признаков развития аллергической реакции на применение Левоксима (повышение количества лимфоцитов, эозинофильных лейкоцитов), что полностью коррелировало с клиническими данными изучения переносимости (отсутствовали зуд, усиление гиперемии, гипертермия).

Приведенные данные, характеризующие клиническое течение раневого процесса, свидетельствуют о положительном клиническом эффекте, достигаемом при лечении ожоговых ран, за счет применения геля «Левоксим» при местном лечении.

Данные о количественном содержании гноеродных микроорганизмов в пересчете на 1 кв. см поверхности опытных и контрольных участков раны в процессе лечения представлены в таблице 3.

Таблица 3. Изменение количества микроорганизмов в процессе лечения

Зона	КОЕ/см <sup>2</sup>		
	1-е сутки	7-е сутки	14-е сутки
Контроль	1.3-1.4×10 <sup>7</sup>	6.5-6.6×10 <sup>6</sup>	3.7-3.8×10 <sup>4</sup>
Опыт	1.4-1.5×10 <sup>7</sup>	6.4-6.5×10 <sup>4</sup> *	ед. колонии*

Примечание: «\*» – различия достоверны по отношению к показателям контрольной группы (p<0,05)

Как следует из представленных в таблице 3 данных, на участках, обработанных гелем «Левоксим», происходило достоверное снижение количества микроорганизмов в пересчете на 1см<sup>2</sup> раневой поверхности. Так, уже на 7-е сутки лечения произошло резкое падение числа микроорганизмов с 1,4-1,5×10<sup>7</sup> до 6,4-6,5×10<sup>4</sup>, в то время как на контрольных участках произошло снижение количества микроорганизмов в пересчете на единицу площади раневой поверхности всего в 2,06 раза. На 14-е сутки на тех же участках на 1 кв. см площади раневой поверхности приходились лишь единицы колоний микроорганизмов, в то время как на контрольных участках ран – в среднем 3,7-3,8×10<sup>4</sup> колоний. Таким образом, данные проведенных качественных и количественных бактериологических исследований свидетельствуют о бактерицидном и бактериостатическом эффектах лечения

Таблица 4. Оценка выраженности болевых ощущений на основных и контрольных участках при лечении поверхностных ожогов гелем «Левоксим» (группа 1) и мази Левомеколь (2 группа) (n=12)

	группа 1		группа 2	
	1 перевязка	2 перевязка	1 перевязка	2 перевязка
Во время перевязки	5,3±0,6	4,3±0,5	4,0±0	5,0±0
5 минут после перевязки	4,6±0,4	3,1±0,4	5,0±0	4,0±0
Через 30 мин	2,8±0,5	3,1±0,5	5,6±1,8	4,0±0

У больных с ожогами II-IIIА степени без выраженного воспаления заживление ран отмечено на 9,1±0,3 дня после начала применения геля Левоксим, а контрольные участки ожоговых ран зажили на 12,5±1,3 сутки.

Таблица 5. Сроки заживления ран в зависимости от примененного варианта местного лечения

Ожоговые раны	Группа сравнения	Основная группа
с выраженным воспалением	14,5±1,1	10,55±0,7
без воспаления	12,5±2,3	9,1±1,3



Рис. 4 Сроки заживления (в сутках) ожоговых ран под действием местного применения геля с репарантами с учетом выраженности воспаления в ране

У больных с выраженным гнойным воспалением заживление ожоговых ран II-IIIА степени происходило в среднем на 10,55±0,7 дня после начала применения геля «Левоксим», на контрольных участках ран, аналогичных по глубине поражения, – на 14,5±1,1 сутки.

Проведенное исследование показало, что в результате применения геля «Левоксим» ожоговые раны зажили в среднем за 9,1 суток, а контрольные участки – за 12,5 суток. Средние сроки заживления ран на контрольных участках и под действием геля с репарантами (опыт) отражены на таблице 5 и рисунке 4.

Из приведенного материала видно, что применение геля, содержащего репаранты с антиоксидантными свойствами сокращает сроки заживления ран.

*Клинический пример успешного применения геля «Левоксим».*

Пациент А. 45 лет. Диагноз: ожог пламенем туловища, конечностей П-ШАБ туловища, верхних конечностей на площади 15% поверхности тела. Ожоговая болезнь в стадии септикотоксемии. Применение геля Левоксим начато на 10 сутки после травмы. На рис. 5 – состояние раны до лечения: видны признаки воспаления, начало краевой эпителизации. На рис. 6 – результат лечения через 8 дней: эпителизация раны завершена.

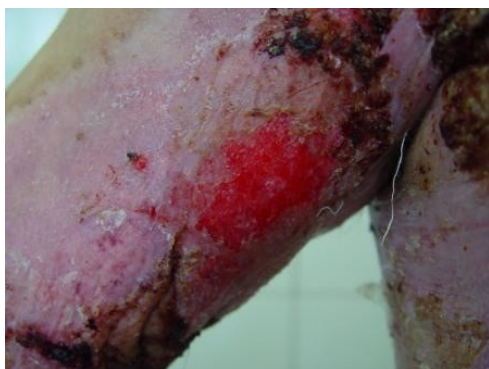


Рис. 5. Состояние раны до начала лечения



Рис. 6. Состояние раны через 8 дней после начала лечения с использованием геля «Левоксим»

Отмечены хорошие и удовлетворительные ранние функциональные и косметические результаты заживления ран.

#### **Заключение**

Таким образом, местное лечение гнойной раны с применением геля, содержащего метаболиты с репарантными свойствами (ксимедон, цитрат) и антибактериальными средствами (левомецетин, трометамол) оказалось, по нашим данным, более эффективным, чем лечение традиционным препаратом «Левомеколь».

#### **Список литературы**

1. Адаскевич В.П., Мяделец В.П. Дерматозы эозинофильные и нейтрофильные. М.; Н. Новгород, 2001. С. 218-219.
2. Айзятупов Р.Ф. Клиническая дерматология (этиология, клиника, диагностика, лечение). Донецк, 2002. С. 284-287.
3. Вихриев В.С., Матвеевко А.В. Клиническое применение препарата «Ксимедон» в лечении ожоговой болезни. Там же. С. 41-46.

4. Горбунов С.М. Фармако-токсикологическая характеристика ксимедона и влияние его на заживление термических ожогов кожи: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Казань, 1979.
5. Давлетшин А.Х., Измайлов С.Г., Кедрин М.Ю. и др. Влияние Ксимедона на заживление ран пищеварительного тракта. Актуальные вопросы диагностики и лечения. Казань: Марийский полиграф комбинат, 1997. С. 36.
6. Измайлов С.Г. Профилактика гнойно-воспалительных ран в неотложной абдоминальной хирургии: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 1994. 44 с.
7. Измайлов С.Г., Измайлов Г.А. Ксимедон и его применение в хирургии // Terra Medica nova. 2001. №1. С. 14.
8. Измайлов С.Г., Измайлов Г.А., Аверьянов М.Ю., Резник В.С. Ксимедон в клинической практике. Н. Новгород: Изд-во Нижегородской государственной медицинской академии, 2001. 188 с.
9. Клинико-лабораторное исследование эффективности ксимедона в лечении больных с термическими ожогами / Р.И. Лифшиц, С.А. Клячкин, А.К. Однопозов и др. // Ксимедон. Казань: Изд-во ИОФХ АН СССР им. А.Е.Арбузова, 1986. С. 46-74.
10. Мосихин С.Б., Цыплаков Д.Э., Лопатин А.С. Действие ксимедона на течение экспериментального синусита (иммуногистохимические исследования) // Российская ринология. 2006. №1. С.26-29.
11. Слабнов Ю.Д. Механизмы системного иммуномодулирующего действия ксимедона: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Казань, 1998.
12. Хафизьянова Р.Х., Рагинов И.С., Вафин А.Д., Челышев Ю.А. // II Тез. докл. Росс. конф. «Фармакология и токсикология фосфорорганических и других биологически активных веществ». Казань, 1996. Вып. 3. С. 145.
13. Jovanovic M., Duran V., Poljacki M. et al. // Med. Pregl. 1994. Vol.47. P. 105-110.
14. Merot Y., Saurat J.H. // Int. J. Derm. 1985. Vol. 24, N 3. P. 169-171.

# ВЛИЯНИЕ ВНУТРИАОРТАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ ОЗОНИРОВАННОГО ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО РАСТВОРА НА СОДЕРЖАНИЕ МЕТАБОЛИТОВ ОКСИДА АЗОТА У ПАЦИЕНТОВ С ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫМ СЕПСИСОМ

А.Ю. Яковлев, Р.М. Зайцев, В.Е. Кучеренко

*Институт ФСБ России, Нижний Новгород*

*Областная клиническая больница им. Н.А.Семашко, Нижний Новгород*

## **Abstract**

The aim of the study was to evaluate the effect of ozonated saline solution on the content of NO metabolites in patients with sepsis caused by gram-negative microflora. Studies were conducted in 139 patients with gram-negative abdominal sepsis of various etiologies. In all studied patients intra-aortic postoperative complex intensive therapy was applied. Patients with sepsis intra-aortic twice was introduced 200 ml of OFR without a break between infusions. The duration of infusion ozonated saline – 12 minutes. The amount of O<sub>3</sub> injected into 400 ml ozonated saline is 1.4 mg. The O<sub>3</sub> dose is 18 µg/kg/day. Duration of therapy is 5 days. The metabolic products of NO was assessed by the level of NO<sub>2</sub> and NO<sub>3</sub> by the method of L. C. Green et al. (1982). It was found that after ozonated saline infusion in the first and fifth days of ozone therapy a decrease in the level of NO decomposition products was determined, which can be regarded as a positive therapeutic effect of ozone therapy, which is directly associated with a decrease in the circulation of LPS of gram-negative bacteria in the blood of sepsis patients. Ongoing at the end of the infusion ozonated saline regression of NO<sub>2</sub>/NO<sub>3</sub> of blood may be related to the influence of ozone on the production of NO and the decomposition of its metabolites.

**Key words:** ozonated saline, intra-aortic injection, nitric oxide, sepsis

Целью исследования явилась оценка изучения влияния озонированного физиологического раствора (ОФР) на содержание метаболитов NO у пациентов с сепсисом, вызванным грамотрицательной микрофлорой. Исследования проведены у 139 больных грамотрицательным абдоминальным сепсисом различной этиологии. У всех исследуемых больных применялась внутриаортальная послеоперационная комплексная интенсивная терапия. Пациентам с сепсисом внутриаортально двукратно вводилось 200 мл ОФР без перерыва между инфузиями. Продолжительность инфузии ОФР – 12 минут. Количество O<sub>3</sub>, вводимого в 400 мл ОФР, – 1,4 мг. Доза O<sub>3</sub> – 18 мкг/кг/сутки. Продолжительность озонотерапии - 5 суток. Продукты метаболизма NO оценивали по уровню NO<sub>2</sub> и NO<sub>3</sub> методом L.C. Green с соавт. (1982). Установлено, что после инфузии ОФР в первые и на пятые сутки озонотерапии определялось снижение уровня продуктов распада NO,

что можно расценить как положительный терапевтический эффект озонотерапии, напрямую связанный со снижением циркуляции ЛПС грамотрицательных бактерий в крови больных сепсисом. Продолжающееся по окончании инфузии ОФР регрессия  $\text{NO}_2/\text{NO}_3$  крови может быть связана с воздействием озона на продукцию  $\text{NO}$  и распад его метаболитов.

**Ключевые слова:** озонированный физиологический раствор, внутриаортальное введение, оксид азота, сепсис

Лечение больных с тяжелыми гнойно-септическими осложнениями заболеваний органов брюшной полости представляет одну из актуальных задач медицины критических состояний. Общая госпитальная летальность при сепсисе до настоящего времени не опускается ниже 20% [1-3]. Особенно высокие цифры летальности отмечаются у больных послеоперационным перитонитом, осложненным грамотрицательным сепсисом [2-6].

В последние годы накапливается все больше сведений, что именно эндотоксикоз является главным патогенетическим звеном грамотрицательного абдоминального сепсиса и полиорганной недостаточности [4, 5, 7-9]. Применение и разработка новых патофизиологически обоснованных методов лечения сепсиса, коррекции эндотоксикоза и полиорганной дисфункции считается в настоящее время основным направлением снижения летальности.

Разработка способов детоксикации, основанных на биостимуляции, иммунокоррекции, экстракорпоральной гемомодификации не привели к значительному улучшению ситуации в лечении перитонеального грамотрицательного сепсиса и сопровождающей его полиорганной недостаточности в силу инвазивности, трудоемкости, дороговизны и малой доступности многих из них для широкой сети лечебных учреждений. Одним из перспективных направлений интракорпоральной детоксикации является озонотерапия, несомненная эффективность которой доказана многими исследователями [10-14]. Однако, при несомненной технологической и организационной простоте этого метода, его доступности и возможности широкого практического использования, остается нерешенным ряд вопросов, связанных с механизмами терапевтического действия озонотерапии у больных грамотрицательным сепсисом. В частности нет данных о влиянии озонотерапии на содержание в сосудистом русле метаболитов оксида азота. Ограничены сведения о механизмах коррекции метаболических нарушений и детоксицирующего воздействия озонированного физиологического раствора (ОФР) на циркуляцию и содержание веществ низкой и средней молекулярной массы (ВНиСММ), традиционно называемых «средними молекулами».

Известно, что при септических состояниях резко повышается продукция  $\text{NO}$  вследствие активации индуцибельной синтазы оксида азота (iNOS) бактериальным эндотоксином – ЛПС. Это приводит к развитию гипотензии, гепатоцеллюлярной недостаточности, повреждению различных органов и

тканей. Молекула NO является одним из биорегуляторов тонуса кровеносных сосудов [15-17], респираторной функции [18], участвует в развитии боли [19] и других процессов.

Сепсис и септический шок вызываются бактериальной инфекцией и представляют собой острый воспалительный ответ. Повышение уровня NO и его метаболитов сопровождается не только цитотоксическим действием на чужеродные клетки, но может проявляться и в отношении собственных клеток и тканей организма. В связи с этим, **целью настоящего исследования** явилась оценка изучения влияния ОФР на содержание метаболитов NO у пациентов с сепсисом, вызванным грамотрицательной микрофлорой.

### **Материал и методы исследования**

Исследования проведены у 139 больных грамотрицательным абдоминальным сепсисом различной этиологии, находящихся на лечении в отделении реанимации и интенсивной терапии Нижегородской областной клинической больницы им. Н.А. Семашко.

Хирургическая тактика, объем оперативного вмешательства были у больных однотипны и направлены на удаление первичного очага инфекции, эвакуацию экссудата, одномоментный лаваж и дренирование брюшной полости. Послеоперационная интенсивная терапия включала в себя комплекс антибактериальной химиотерапии с учетом результатов клинических и бактериологических исследований, поддержание центральной гемодинамики, водно-электролитного баланса и кислотно-основного состояния, реокорректирующую терапию, нутритивную поддержку (до 3000 ккал/сутки) и респираторную терапию. Обезболивание в послеоперационном периоде осуществлялось введением наркотических и ненаркотических анальгетиков. При снижении общего белка ниже 50 г/л, а гемоглобина - 80 г/л проводилась их коррекция компонентами и препаратами крови. Дозировки используемых препаратов в сравниваемых группах были идентичными.

У всех исследуемых больных применялась внутриаортальная послеоперационная комплексная интенсивная терапия. По методике Сельдингера чрезбедренным доступом проводилась катетеризация аорты рентгеноконтрастным катетером с установкой катетера на уровне T<sub>VI</sub>, что подтверждалось рентгенографией органов грудной клетки. После подтверждения правильности установки катетера проводилась его фиксация и начиналось введение препаратов в аорту. При этом суточный объем инфузии составлял 50-60 мл/кг. Продолжительность проведения внутриаортальной терапии у больных исследуемых групп составляла от 8 до 19 суток (средняя продолжительность – 10,1 суток). Препараты крови и жировые эмульсии вводились внутривенно.

Условия приготовления 200 мл ОФР во всех группах больных были одинаковыми: концентрация озона на выходе озонатора «УОТА-1М» - 60 мг О<sub>3</sub>/лО<sub>2</sub>, скорость потока О<sub>2</sub> через озонатор – 0,4 л/мин, время барботирования

– 30 минут. Контроль концентрации озона в ОФР во флаконе и инфузионной системе проводили с помощью встроенного в аппарат спектрофотометрического измерительного блока. Исходная средняя концентрация озона в ОФР составляла – 10,1 мг/л.

Пациентам грамотрицательным сепсисом внутриаортально двукратно вводилось 200 мл ОФР без перерыва между инфузиями. Продолжительность инфузии 200 мл ОФР – 12 минут. Количество  $O_3$ , вводимого внутриаортально в 400 мл ОФР, – 1,4 мг. Доза  $O_3$  – 18 мкг/кг/сутки. Продолжительность озонотерапии составляла 5 суток.

Продукты метаболизма NO оценивали по уровню  $NO_2$  и  $NO_3$  методом описанным L.C. Green с соавторами (1982) [20, 21].

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с помощью параметрических и непараметрических методов вариационной статистики.

### Результаты

При оценке динамики содержания  $NO_2$  и  $NO_3$  в венозной и артериальной крови на 1 и 5 сутки исследования у всех пациентов были выявлены следующие закономерности.

Исходно, в первые сутки, определялся высокий уровень содержания метаболитов NO как в артериальной, так и венозной крови (табл. 1, рис. 1). Это может быть связано с тем, что при воспалительных процессах резко возрастает продукция супероксидного анион-радикала макрофагами и полиморфно-ядерными нейтрофилами, происходит продолжительное усиление синтеза NO [22]. Как правило, базальный уровень продукции NO в артериях выше. Содержание  $NO_2/NO_3$  в венозной крови было выше, чем в артериальной, что может быть связано с особенностями абдоминальной локализации патологического процесса у больных, вошедших в исследование. В крови NO практически мгновенно связывается с гемоглобином, благодаря чему время нахождения в кровотоке сведено к минимуму. Сродство гемоглобина к NO в тысячи раз превышает его сродство к кислороду. При взаимодействии NO с оксигемоглобином образуется метгемоглобин и анионы  $NO_3$ , а при взаимодействии с восстановленным гемоглобином – нитрозилгемоглобин и  $NO_3$ . Последние выводятся из организма почками. В соединении с гемоглобином NO может транспортироваться в организме на значительные расстояния, вступая в обменные процессы в различных органах и тканях. NO может необратимо инактивироваться реакцией с гемоглобином в просвете кровеносного сосуда и супероксидным радикалом в стенке кровеносного сосуда, что может являться причиной увеличенных значений  $NO_2$ ,  $NO_3$  в артериальной крови по сравнению с венозной [15, 23-25].

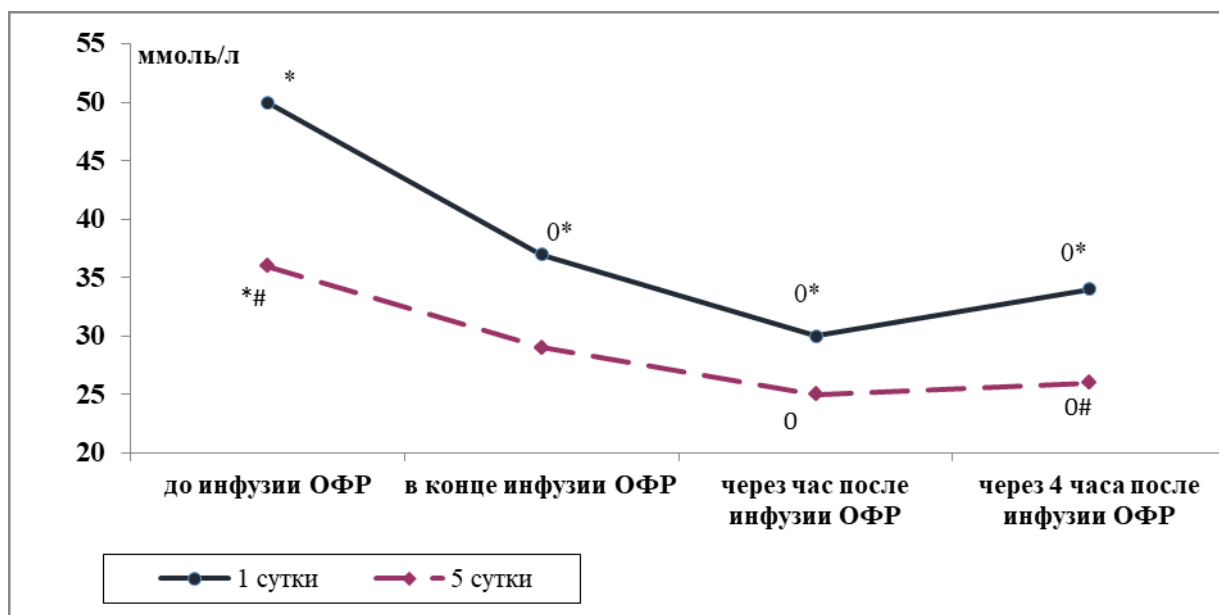


Рис. 1. Динамика нитритов и нитратов венозной крови при инфузии ОФР в 1 и 5 сутки озонотерапии (Примечание: «0» – достоверность результатов относительно исходных значений; «\*»- достоверность отличий показателей венозной крови относительно артериальной на одинаковых этапах исследования; «#»- достоверность отличий между значениями показателей в 1 и на 5 сутки озонотерапии на одинаковых этапах исследования)

Значения венозных показателей превышало артериальные, что можно связать с повышенной продукцией NO в большом круге кровообращения при абдоминальном сепсисе. В конце внутриортальной инфузии ОФР отмечалось снижение  $\text{NO}_2/\text{NO}_3$  в артериальной крови на 15,1%. В венозной крови достоверное уменьшение было отмечено уже на этом этапе (на 25%) с появлением достоверных отличий артерио-венозных показателей от исходных значений в абсолютных (на 48,1%) и относительных величинах (на 30,6%) (рис. 2).

Табл. 1. Динамика нитритов и нитратов венозной крови при инфузии ОФР в 1 и 5 сутки озонотерапии (M±m)

Показатель	Этапы исследования							
	1 сутки				5 сутки			
	До инфузии ОФР	В конце инфузии ОФР	Через 1 час после инфузии ОФР	Через 4 часа после инфузии ОФР	До инфузии ОФР	В конце инфузии ОФР	Через 1 час после инфузии ОФР	Через 4 часа после инфузии ОФР
Нитраты/нитриты артериальной крови, ммоль/л	35,06±3,05	29,76±3,09	27,58±2,96 <sup>0</sup>	27,65±2,45 <sup>0</sup>	28,38±2,05 <sup>#</sup>	24,20±2,40	22,01±2,01 <sup>0</sup>	22,26±1,96 <sup>0</sup>
Нитраты/нитриты венозной крови, ммоль/л	49,98±2,47 <sup>*</sup>	37,51±3,05 <sup>0*</sup>	30,40±2,88 <sup>0*</sup>	33,79±2,97 <sup>0*</sup>	35,81±3,11 <sup>#*</sup>	29,50±3,27	25,01±2,58 <sup>0</sup>	26,08±2,21 <sup>0#</sup>
Нитраты/нитриты а-в разница, ммоль/л	-14,92±2,14	-7,75±1,45 <sup>0</sup>	-2,82±0,46 <sup>0</sup>	-6,13±0,82 <sup>0</sup>	-6,97±0,87 <sup>#</sup>	-5,30±1,09	-2,92±0,59 <sup>0</sup>	-3,62±0,65 <sup>0#</sup>
Нитраты/нитриты а-в разница, %	-48,21±6,46	-33,45±5,39 <sup>0</sup>	-15,48±3,07 <sup>0</sup>	-22,84±2,30 <sup>0</sup>	-25,45±3,35 <sup>#</sup>	-19,10±3,98 <sup>#</sup>	-11,91±3,44 <sup>0</sup>	-13,37±3,58 <sup>0#</sup>

Примечание: «0» – достоверность результатов относительно исходных значений;

«\*» - достоверность отличий показателей венозной крови относительно артериальной на одинаковых этапах исследования;

«#» - достоверность отличий между значениями показателей в 1 и на 5 сутки озонотерапии на одинаковых этапах исследования

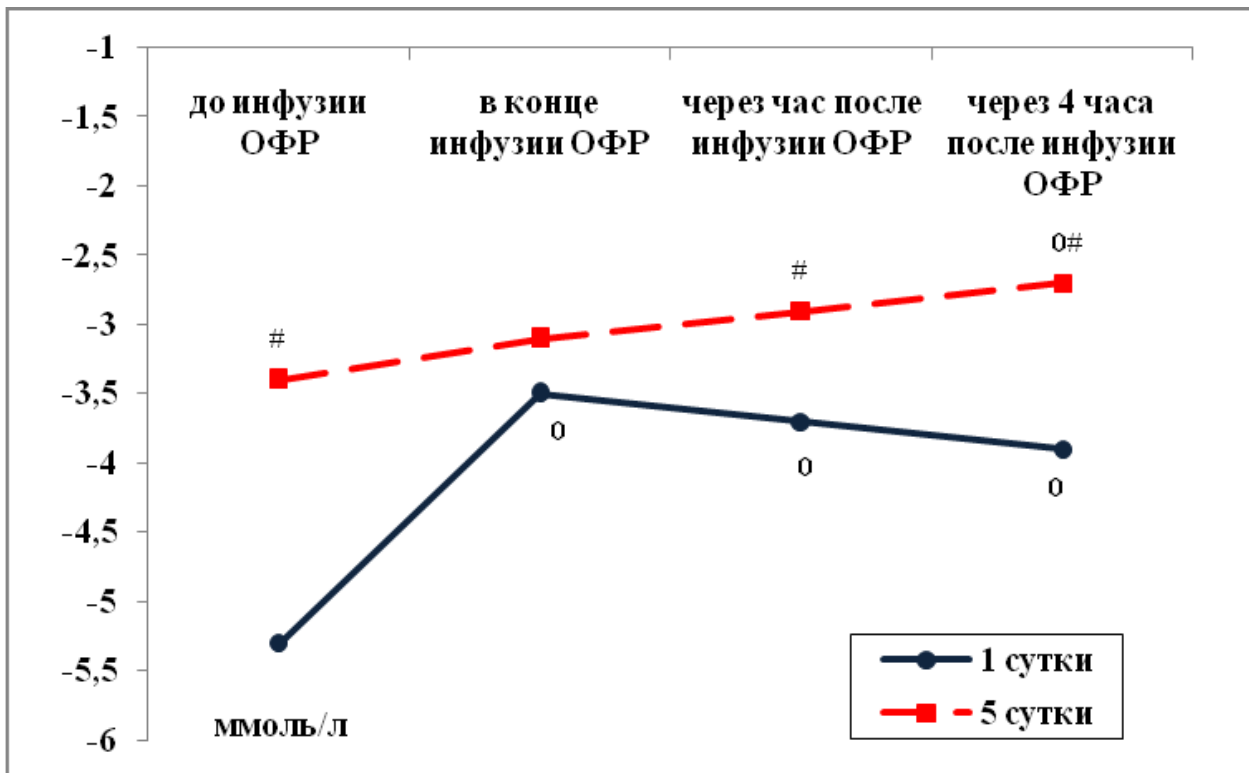


Рис. 2. Динамика а-в разницы нитритов и нитратов венозной крови при инфузии ОФР в 1 и 5 сутки озонотерапии (Примечание: «0» – достоверность результатов относительно исходных значений; «\*» - достоверность отличий показателей венозной крови относительно артериальной на одинаковых этапах исследования; «#» - достоверность отличий между значениями показателей в 1 и на 5 сутки озонотерапии на одинаковых этапах исследования)

Через 1 час после введения ОФР продолжалось достоверное снижение  $\text{NO}_2/\text{NO}_3$  венозной и артериальной крови с уменьшением артерио-венозной разницы. Через 4 часа после введения ОФР наметилась тенденция к возрастанию значений  $\text{NO}_2/\text{NO}_3$  венозной крови, но при этом сохранялась достоверность отличий (на 32,4%) по сравнению с исходными величинами до первого введения ОФР в аорту. Снижение  $\text{NO}_2$ ,  $\text{NO}_3$  во время инфузии ОФР и после его прекращения явились свидетельством прямого и отсроченного действия озонотерапии на продукцию метаболитов NO. Увеличение артерио-венозных отличий было связано только с ростом венозных показателей нитритов, нитратов.

На пятые сутки перед инфузией ОФР значения  $\text{NO}_2/\text{NO}_3$  были значительно ниже таковых в первые сутки интенсивной терапии: в артериальной крови - на 18,6%, а в венозной - на 28,4%. На наш взгляд сохраняющееся повышенное содержание  $\text{NO}_2/\text{NO}_3$  связано с продолжающимся выделением в кровеносное русло ЛПС, эндотоксинов и цитокинов, увеличивающих продукцию NO путем индукции макрофагальных форм синтазы NOS, iNOS в особенности [22, 26]. Снижение продукции NO и его метаболитов относительно значений первых суток терапии косвенно свидетельствовало об эффективности патогенетической терапии грамотрицательного сепсиса внутриаортальной инфузией ОФР и уменьшении степени окислительного стресса и эндотоксикоза, так как

образующийся в результате реакции между двумя радикалами (оксид азота и супероксиданион) пероксинитрит является интегрирующим звеном окислительного стресса. Пероксинитрит самостоятельно может оказывать исключительно сильное цитотоксическое действие [27].

Более выраженная динамика снижения  $\text{NO}_2$ ,  $\text{NO}_3$  венозной крови свидетельствовала об эффектах озонотерапии в очаге инфекции при абдоминальном сепсисе, так как на наш взгляд первичные эффекты озонотерапии в основном локализовались в органах брюшной полости, ОФР вводился внутриаортально.

На пятые сутки исходные значения артерио-венозной разницы по продуктам метаболизма  $\text{NO}$  были ниже таковых в первые сутки на 53,3% в абсолютных величинах и на 22,8% в относительных цифрах. Возможно, это является свидетельством снижения участия малого круга кровообращения и в первую очередь артериол легких в системной воспалительной реакции при генерализованной инфекции и восстановлении нереспираторных функций легких [28].

На пятые сутки озонотерапии, сразу после внутриаортального введения ОФР снижение содержания метаболитов  $\text{NO}$ , относительно исходных цифр, составило 14,7% в артериальной крови и 17,6% - в венозной крови. Через 1 час оно стало достоверным и достигло 22,4% по показателям артериальной крови и 30,2% по показателям венозной крови. Через 4 часа – достоверность изменений составила 21,6% и 27,2% относительно исходных значений пятых суток интенсивной терапии.

Динамика артериальных и венозных  $\text{NO}_2$ ,  $\text{NO}_3$  на пятые сутки озонотерапии, была менее выраженной, чем при инфузии ОФР в первые сутки озонотерапии, что при исходно меньших их значениях совокупно служило косвенным свидетельством снижения выраженности воспалительных изменений в клетках с максимальной продукцией оксида азота у септических больных, т.е. в макрофагах и эндотелии сосудов.

При рассмотрении динамики артерио-венозной разницы на пятые сутки исследования было также выявлено динамическое изменение значений этого показателя при озонотерапии. В конце инфузии ОФР а-в разница продуктов метаболизма оксида азота снизилась в абсолютных цифрах на 23,9%, а относительных цифрах - на 6,4%. Через 1 час после инфузии ОФР зарегистрировано достоверное уменьшение абсолютных (на 58,3%) и относительных (на 53,2%) цифр артерио-венозной разницы  $\text{NO}_2/\text{NO}_3$  относительно исходных значений пятых суток исследования. Через 4 часа после введения ОФР достоверное снижение артерио-венозной разницы по продуктам метаболизма  $\text{NO}$  сохранялась и составила в абсолютных величинах 48,1%, а в относительных – 47,5%. Снижение артерио-венозной разницы было связано в первую очередь со снижением уровня метаболитов  $\text{NO}$  в венозной крови.

### **Заключение**

Таким образом, после инфузии ОФР в первые и на пятые сутки озонотерапии определялось снижение уровня продуктов распада  $\text{NO}$ , что можно расценить как положительный терапевтический эффект озонотерапии, напрямую

взаимосвязанный со снижением циркуляции ЛПС грамотрицательных бактерий в крови больных сепсисом. Продолжающееся по окончании инфузии ОФР регрессия  $\text{NO}_2/\text{NO}_3$  крови может быть связана с самостоятельным воздействием озона на продукцию NO и распад его метаболитов.

### Список литературы

1. Интенсивная терапия: национальное руководство: в 2 т. / под ред. Б.Р. Гельфанда, А.И. Салтанова. М.: ГОЭТАР Медиа, 2009. Т. II. 784 с.
2. Сепсис в начале XXI в. Классификация, клинико-диагностическая концепция и лечение. Патолого-анатомическая диагностика: Практическое руководство / Под ред. В.С. Савельева, Б.Р. Гельфанда М: Литтерра, 2006. 176 с.
3. Ерюхин И.А. Хирургия гнойного перитонита // 50 лекций по хирургии / под ред. В.С. Савельева. М.: Медиа Медика, 2003. 408 с.
4. Завада Н.В., Гаин Ю.М., Алексеев С.А. Хирургический сепсис. –Минск: новое знание, 2003. 237 с.
5. Bone R.C., Balk R.A., Cerra F.B., Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis: the ACCD/SCCM consensus conference committee // Chest. 1992. Vol. 101. P. 1644-1655.
6. Dellinger R.P., Carlet J., Masur H. et al. Surviving Sepsis Campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock // Crit. Care Med. 2004. Vol. 32. P. 858–873.
7. Ерюхин И.А., Шашков Б.В. Эндотоксикоз в хирургической клинике. СПб.: Издательство «Logos», 1995. 304 с.
8. Мартусевич А.К., Перетягин С.П., Погодин И.Е. Метаболические аспекты ожогового эндотоксикоза // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2009. №1. С. 30-32.
9. Levy M.M., Fink M.P., Marshall J et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCPATSSIS International sepsis DeFinitions Conference // Crit. Care Med. 2003. Vol. 31. P. 1250–1256.
10. Бояринов Г.А., Лебедь С.Л., Грибков А.В., Лебедь В.Г. Аспекты применения озонированного физиологического раствора в нейрореаниматологии // Мат. VIII Всеросс. науч.-практ. конф. с международным участием “Озон, активные формы кислорода и методы интенсивной терапии в медицине”. – Нижний Новгород.- 2009. - С. 127-130.
11. Заривчацкий М.Ф., Кирко Г.Е., Кустова Я.Р. с соавт. Применение магнитной обработки крови в сочетании с озонотерапией в комплексном лечении синдрома интоксикации у хирургических больных // Тез. докл. 2-й Всероссийской науч. - практ. конф. с международным участием “Озон в биологии и медицине”. Нижний Новгород. 1995. С. 47.
12. Касумьян С.А., Сергеев А.В., Некрасов А.Ю. Озоновые санации брюшной полости при лапароскопическом лечении перитонита // Мат. VIII Всеросс. науч.-практ. конф. с международным участием «Озон, активные формы кислорода и методы интенсивной терапии в медицине» Нижний Новгород. 2009. С. 115.

13. Перетягин С.П. Патофизиологическое обоснование озонотерапии постгеморагического периода: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Казань, 1991. 29 с.
14. Семенов С.В., Казаков И.П. Применение озона в интенсивной терапии разлитого перитонита // Озон в биологии и медицине: Мат. V Всеросс. науч.-практ. конф. – Нижний Новгород. 2003. С. 166.
15. Ванин А.Ф. Оксид азота в биомедицинских исследованиях // Вестник РАМН. 2000. № 4. С. 3–5.
16. Мартусевич А.К., Перетягин С.П., Самоделкин А.Г., Соловьева А.Г., Мартусевич А.А., Иващенко М.Н. Биомедицина оксида азота (NO): функционально-метаболические аспекты. Нижний Новгород, 2017. 261 с.
17. Сосунов А.А. Оксид азота как межклеточный посредник // Соросовский образовательный журн. 2000. Т. 6. С. 27–34.
18. Дюйзен И.В. Значение оксида азота в механизмах развития боли: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Владивосток, 2004. 44 с.
19. Елисеева Е.В. Морфологические основы нитроксидергической регуляции органов дыхания: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Владивосток, 2001. 42 с.
20. Емченко Н. Л., Цыганенко О. И., Ковалевская Т. В. // Клин. лаб. диагн. 1994. №6. С. 19-20.
21. Green L.C., Wagner D.A., Glogowski J. et al. Analysis of nitrate, nitrite, and [15N]-nitrate in biological fluids // Anal. Biochem. 1982. Vol. 126. P. 131-138.
22. Голиков П.П. Оксид азота в клинике неотложных заболеваний. М: ИД Медпрактика-М, 2004, 180 с.
23. Абакумов М.М., Голиков П.П., Николаева Н.Ю. с соавт. Генерация оксида азота тромбоцитами периферической крови человека в норме и при ранениях груди и живота // Вопросы медицинской химии. 2002. Вып. 3. С. 286–292.
24. Вознесенский Н.А., Чучалин А.Г., Антонов Н.С. Окись азота и легкие // Пульмонология. – 1998. - №2. – С. 32–37.
25. Волин М.С., Дэвидсон К.А., Камински П.М. с соавт. Механизмы передачи сигнала оксидант – оксид азота в сосудистой ткани // Биохимия. 1998. вып. 7. С. 958 – 965ю
26. Голиков П.П., Николаева Н.Ю. Метод определения нитрита/нитрата (NO<sub>x</sub>) в сыворотке крови // Вопросы биомедицинской химии. 2004. №1. С. 79- 85.
27. Голиков П.П., Пахомова Г.В., Утешев Н.С. с соавт. Динамика содержания конечного продукта оксида азота нитрита в различных биологических жидкостях при перитоните // Вестник интенсивной терапии. 2000. №4. С. 31-33.
28. Сыромятникова Н.В., Гонарова В.А., Котенко Т.В. Метаболическая активность легких. Л.: Медицина, 1987. 168 с.

## 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, деграция, 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-Chef – Prof. Sergey P. Peretyagin ([psp\\_aro@mail.ru](mailto:psp_aro@mail.ru))**

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

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

### 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.