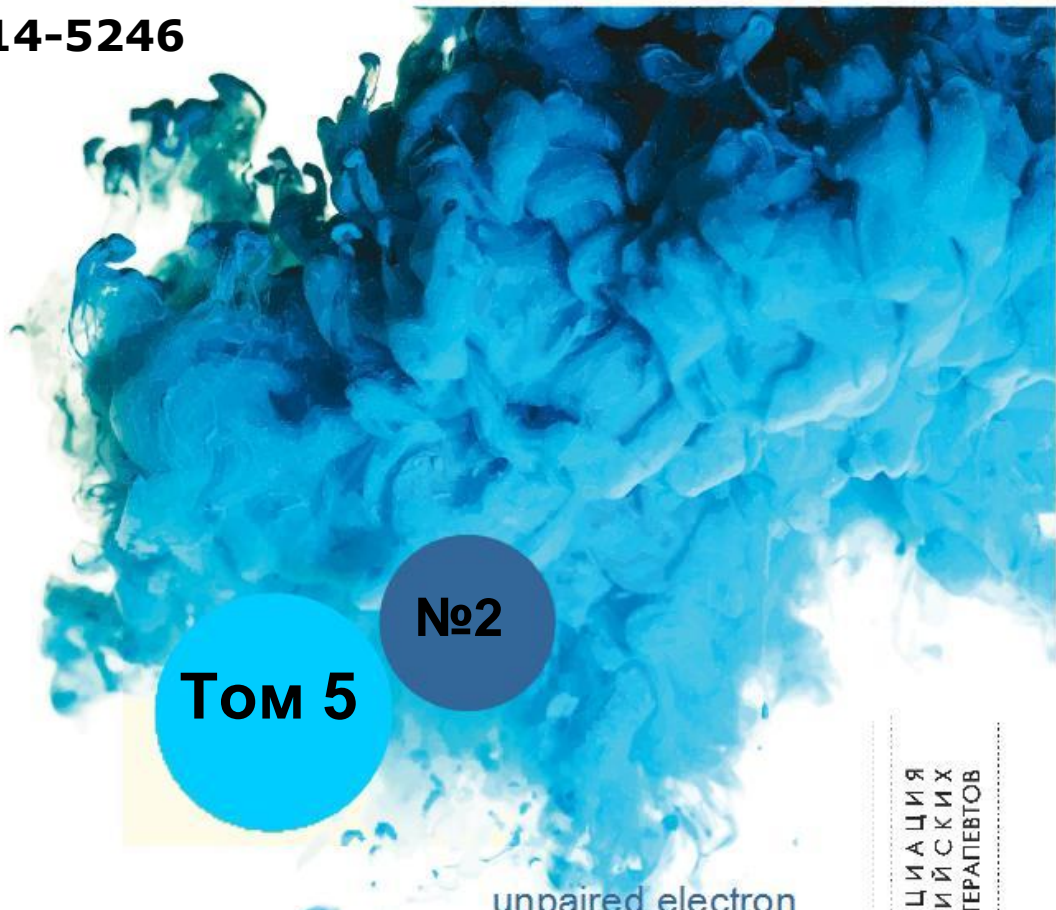
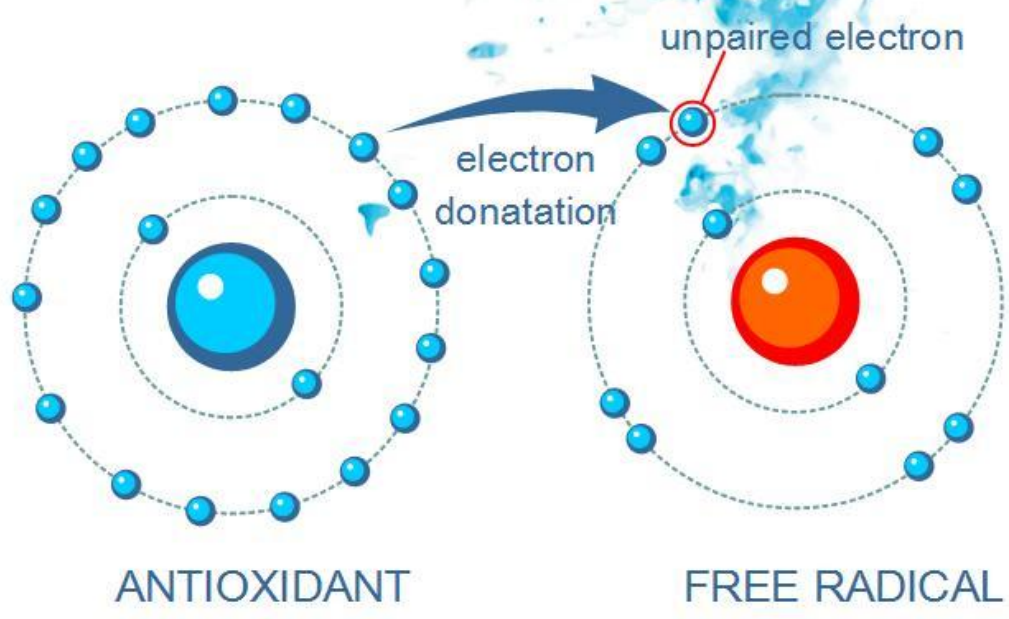


ISSN 2414-5246



Том 5

№2



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)

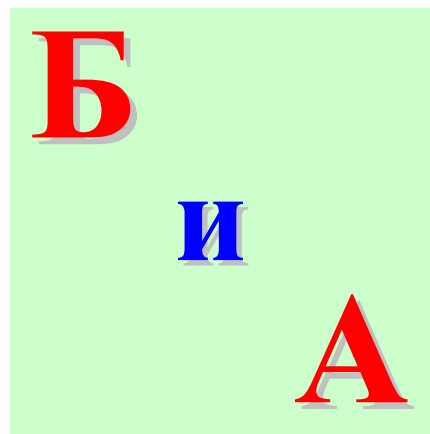
И.В. Мухина, д.б.н., проф. (Н.Новгород)

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, №2
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
psp_aro@mail.ru

Internet: www.ozonotherapy.ru

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

Содержание

Content

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Беляев А.Н., Козлов С.А.

Влияние различных путей введения кровезаменителей и мексидола на показатели эндотоксемии при экспериментальной комбинированной травме

Дерюгина А.В., Тарасова Н.Ю., Бояринов Г.А.

Состояние окислительного метаболизма крови при использовании стерофундина у пациентов с ишемическим инсультом

Лебедь С.Л., Бояринов Г.А.

Возможности окислительной детоксикации озоном проявлений эндотоксемии у нейроонкологических больных в послеоперационном периоде

Мартусевич А.К., Соловьева А.Г.
Модуляция каталитических свойств альдегиддегидрогеназы эритроцитов экзогенным монооксидом азота

Соловьева А.Г., Мартусевич А.К., Диденко Н.В.

Оценка влияния газового потока, содержащего активные формы кислорода и оксид азота, на уровень нитротирозина плазмы

Правила оформления статей

ORIGINAL ARTICLES

4 Belyaev A.N., Kozlov S.A.

The effect of different routes of administration of blood substitutes and Mexidol on the indicators of endotoxemia in experimental combined injury

16 Deryugina A.V., Tarasova N.Yu., Boyarinov G.A.

The state of oxidative blood metabolism in patients with ischemic stroke using sterofundin

23 Lebed S.L., Boyarinov G.A.

Possibilities of ozone for oxidative detoxification of endotoxemia manifestations in neurooncological patients in the postoperative period

33 Martusevich A.K., Soloveva A.G.
Modulation of the catalytic properties of the aldehyde dehydrogenase of erythrocytes with exogenous nitric oxide

41 Yakovlev A.Yu., Zaytsev R.M., Kucherenko V.E.

Impact assessment of the gas stream containing active oxygen species and nitric oxide, on the level of nitrotyrosine plasma

45 Guidelines for authors

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ПУТЕЙ ВВЕДЕНИЯ КРОВЕЗАМЕНИТЕЛЕЙ И МЕКСИДОЛА НА ПОКАЗАТЕЛИ ЭНДОТОКСЕМИИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ КОМБИНИРОВАННОЙ ТРАВМЕ

А.Н. Беляев, С.А. Козлов

ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П.Огарёва», Саранск

Abstract

The aim of the work was to study the effect of infusion therapy in combination with antihypoxants on endotoxemia in the near post-resuscitation period in the experiment. Experimental studies were conducted on 80 dogs on the model of combined injury (blood loss + burn) to study the effectiveness of various infusion media. The animals were removed from the preagonal state by intravenous or intraosseous injection of fluids 20 minutes after the end of blood loss. The injection was started with blood substitutes followed by the introduction of autologous blood in a ratio of 1: 1. In animals after injury the level of substances of low and medium molecular weight, malonic dialdehyde, lactate, pyruvate, urea and creatinine, the activity of catalase and lactate dehydrogenase, the leukocyte intoxication index, the coefficient of stability of the protein and the index of intoxication were studied. It was found that mexidol has a corrective effect on the indicators of endotoxemia in combined injury. Its detoxification effect is largely due to the significant weakening of free radical oxidation due to the growth of catalase activity and the elimination of toxic metabolites from the animal body in the post-infusion period.

Key words: thermal trauma, burn shock, detoxication, mexidol, antihypoxants, antioxidants

Целью работы явилось исследование влияния инфузионной терапии в сочетании с антигипоксантами на показатели эндотоксемии в ближайшем постреанимационном периоде в эксперименте. Экспериментальные исследования проведены на 80 собаках на модели комбинированной травмы (кровопотеря + ожог) с целью изучения эффективности различных инфузионных сред. Выведение животных из преагонального состояния осуществляли с помощью методов внутривенного или внутрикостного нагнетания жидкостей через 20 мин после окончания кровопотери. Нагнетание начинали с кровезаменителей с последующим введением аутокрови в соотношении 1 : 1. У животных после нанесения травмы в динамике изучали уровень веществ низкой и средней молекулярной массы, малонового диальдегида, лактата, пирувата, мочевины и креатинина, активность каталазы и лактатдегидрогеназы, определяли лейкоцитарный индекс интоксикации, коэффициент устойчивости белка и индекс

интоксикации. Установлено, что мексидол оказывает корригирующее влияние на показатели эндотоксикоза при комбинированной травме. Его дезинтоксикационный эффект в большей степени обусловлен значительным ослаблением свободнорадикального окисления вследствие роста каталазной активности и элиминацией токсических метаболитов из организма животных в постинфузионном периоде.

Ключевые слова: термическая травма, ожоговый шок, детоксикация, мексидол, антигипоксанты, антиоксиданты

Из-за несвоевременности оказания первой медицинской помощи летальность тяжелообожженных на догоспитальном этапе в России в 5 раз выше, чем в других странах и составляет 25–30% [1, 2]. Среди пораженных с тяжелой термотоксической и комбинированной травмой спасти удастся лишь тех, кому в первые 3–5 ч в полном объеме оказана первая медицинская помощь [3], причем, каждый час отсрочки противошоковой терапии увеличивает летальность на 10% [4]. Особенностью комбинированных повреждений является синдром взаимного отягощения, обусловленный синергическим взаимодействием патогенетических механизмов, связанных с повреждением органов и систем [5] и приводящий к развитию ПОН [6, 7], коррекция которой представляет одну из наиболее сложных и нерешенных задач медицины на современном этапе. Наиболее опасным для жизни пострадавшего является развитие острой дыхательной, сердечно-сосудистой и почечно-печеночной недостаточности [8, 9].

Одним из универсальных патологических процессов на уровне клетки при всех критических состояниях является гипоксический синдром; нарушение энергетического гомеостаза клетки, как ключевое звено его формирования, ставит задачу разработки средств, нормализующих энергетический обмен [10–14]. Инфузия кровезаменителей и компонентов крови не снижает, а подчас увеличивает содержание липоперекисей и активность лизосомальных ферментов в крови [15]. Реперфузионный синдром, возникающий вследствие вымывания продуктов метаболизма из ишемизированных в период шока тканей [16, 17], уменьшается при включении в схему лечения средств метаболической коррекции [18, 19]. Поэтому сейчас широко исследуются препараты из классов антиоксидантов [20], антигипоксантов [11, 12, 21] и актопротекторов [22].

В терапии гипоксии большое внимание уделяется антиоксидантному лечению, так как патофизиологические механизмы гипоксии обусловлены накоплением в организме АФК. В плане лечения перспективно и патогенетически обосновано сочетание антиоксидантов и антигипоксантов [18, 19, 22].

Перспективным направлением в трансфузионной терапии критических состояний является использование искусственных переносчиков кислорода и кровезаменителей, содержащих антигипоксанты.

Коррекция расстройств гомеостаза при комбинированной травме (ожог на фоне кровопотери) с включением антигипоксантов относится к наименее разработанной проблеме современной реаниматологии. Наше внимание привлекли препараты антигипоксического действия – димефосфон и мексидол.

Целью работы явилось исследование влияния инфузионной терапии в сочетании с антигипоксантами на показатели эндотоксемии в ближайшем постреанимационном периоде в эксперименте.

Материал и методы исследования

Экспериментальные исследования проведены на 80 собаках на модели комбинированной травмы (кровопотеря+ожог) с целью изучения эффективности различных инфузионных сред гемодинамической направленности. Глубокий ожог III степени на площади 5% поверхности тела наносили на передне-боковую поверхность грудной клетки справа с помощью аппарата Н. И. Кочетыгова (1964) с экспозицией 40–45 с и температурой прогрева подкожно-жировой клетчатки до 58–60°C. Глубина поражения тканей и температура контролировалась методом тканевой термометрии. После окончания катетеризации центральных (артерия, вена, грудной лимфатический проток) и периферических сосудов осуществляли взятие исходных проб крови, регистрировались параметры гемо- и лимфодинамики. Затем проводилась срединная микролапаротомия для последующего выведения петли тонкой кишки с брыжейкой и проведения биомикроскопии.

Через 4-5 мин после нанесения ожога осуществляли свободное кровопускание из правой бедренной артерии в объеме 25-30 мл/кг ($27,17 \pm 3,8$ мл/кг) до уровня гипотензии 40-45 мм рт. ст. ($5,32-6$ кПа). Продолжительность кровопускания составляла $6,97 \pm 0,45$ мин. Данный объем кровопотери на фоне ожога приводит к снижению АД до 40–45 мм.рт.ст. с развитием преагонального состояния и является стандартной для изучения эффективности введения крови и кровезаменителей [19]. Увеличение площади ожога или объема кровопотери быстро приводили к гибели животных.

Манипуляции с животными производили под тиопентал-натриевым наркозом (45 мг/кг внутривенно).

После комбинированной травмы без лечения развивался тяжелый необратимый шок с последующей гибелью животных в течение двух часов после травмы.

Животным контрольных серий наносили травму под общим обезболиванием без дальнейшего лечения.

Выведение животных из преагонального состояния осуществляли с помощью методов внутривенного (в/в) или внутрикостного (в/к) нагнетания жидкостей через 20 мин после окончания кровопотери. Нагнетание начинали с кровезаменителей с последующим введением аутокрови в соотношении 1 : 1 (Бегоулов И. В., 1986).

Внутривенное (в/в) нагнетание осуществляли в бедренную вену под давлением 80–120 мм рт. ст. с объемной скоростью восполнения кровопотери $26,37 \pm 2,3$ мл/кг/мин.

Внутрикостные (в/к) нагнетание осуществляли одним или двумя шприцами непрерывного действия в венозное русло эпифизов длинных трубчатых костей с объемной скоростью восполнения $14,67 \pm 2,4$ мл/кг/мин до стабилизации АД на цифрах 80–90 мм рт. ст., оставшийся объем кровезаменителя и кровь вводили медленно под контролем ЦВД.

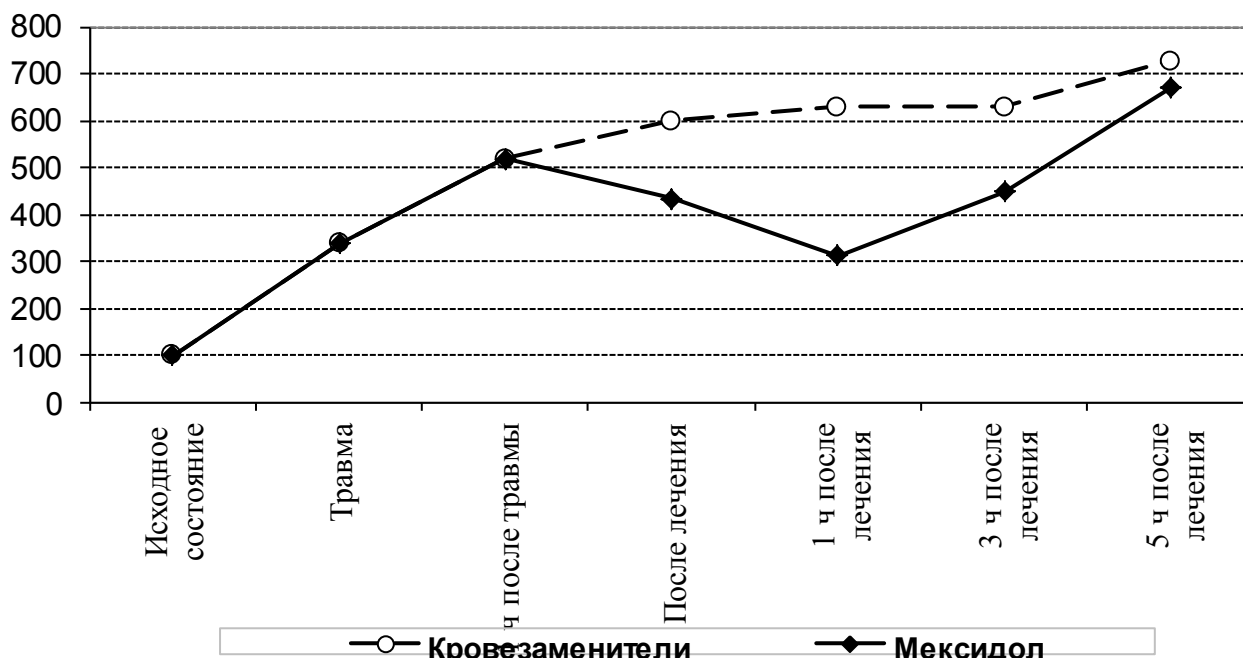
В качестве маркеров эндотоксикоза исследовали следующие показатели:

- вещества низкой и средней молекулярной массы (ВНиСММ);
- содержание вторичного продукта перекисного окисления липидов (ПОЛ) малонового диальдегида (МДА);
- активность каталазы;
- лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИ);
- коэффициент устойчивости белка (КУБ) определяли как отношение M_{280}/M_{254} (Карклия М. Н., Жукова Ю. В., 1993; Бякин С. П., 1999).
- индекс интоксикации (ИИ), как интегральную оценку эндогенной интоксикации;
- содержание мочевины и креатинина в плазме крови;
- активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ, Е/л) находили с помощью набора реактивов фирмы «La Sema» (Чехия).
- уровень лактата и пирувата в плазме крови.

Статистическую обработку результатов осуществляли стандартными алгоритмами вариационной статистики в программном пакете Statistica 6.0.

Результаты исследования

После в/в введения кровезаменителей и мексидола (50 мг/кг) общий и катаболический пулы ВНиСММ возросли на 23,84% и 47,72%, что не наблюдалось при использовании других антигипоксантов. Этот факт связан, видимо, с разблокированием микроциркуляторного русла под влиянием этого препарата и поступлением различных веществ токсической природы в общий кровоток.



ис. 1. Активность лактатдегидрогеназы при в/в введении кровезаменителей и мексидола (50 мг/кг)

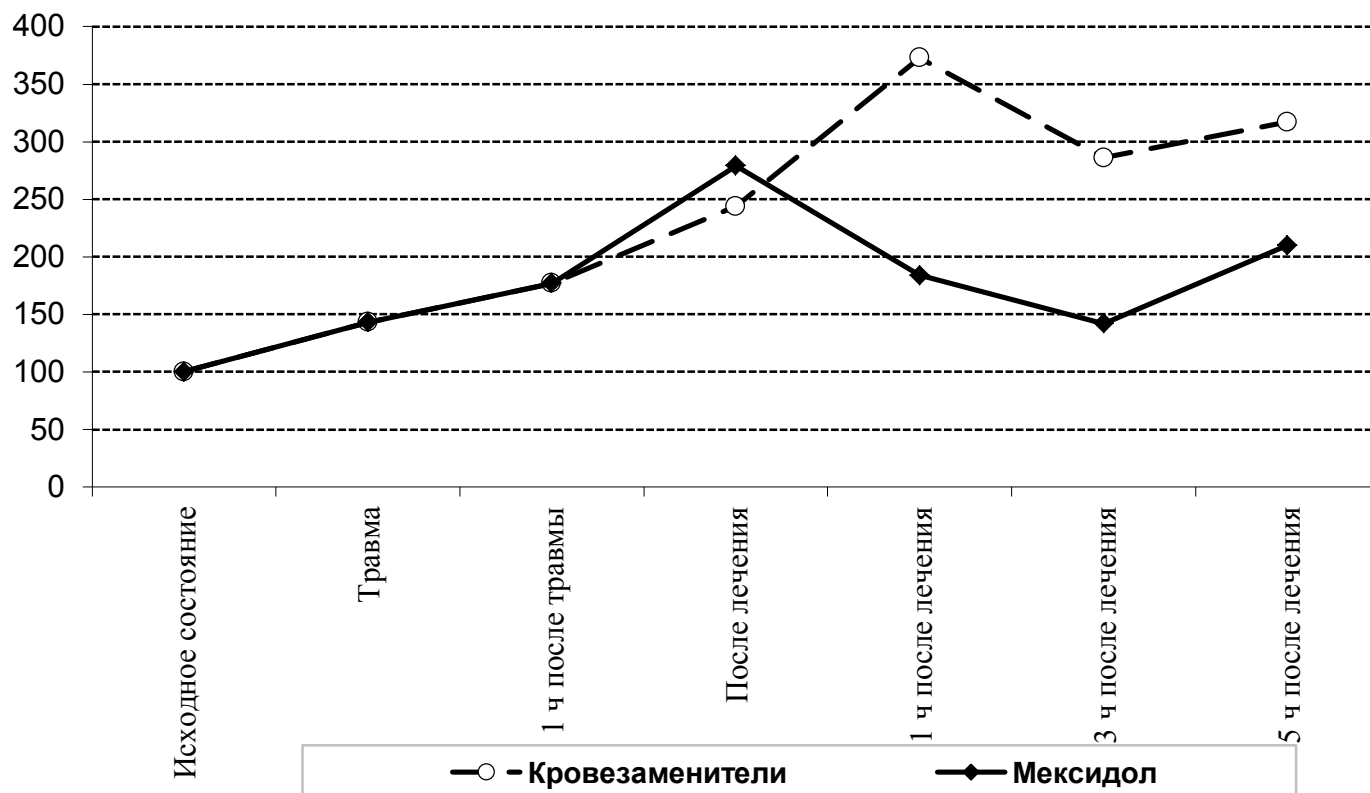


Рис. 2. Отношение «лактат/пируват» при в/в введении кровезаменителей и мексидола (50мг/кг)

В раннем постинфузионном периоде содержание ВНиСММ оставалось высоким и к 3 ч превышало норму на 43,34 %, а катаболический пул – на 47,34 % ($p < 0,001$). Одновременно с этим КУБ возрастал на 51,76 % относительно 1 ч посттравматического периода и превышал контрольную величину на 38,71 %, к 1 ч после лечения равнялся 123,66 % от нормы, затем постепенно снижался. К 1 суткам содержание ВНиСММ становилось максимальным: их общий пул превышал нормальную величину на 61,79 %, катаболический – на 50,99%.

Устойчивость белка снижалась до 81,72 % от исходной, что было значительно выше, чем при использовании НОБ и недостоверно отличалось от КУБ после введения димефосфона. После лечения ИИ возрастал в 1,49 раза преимущественно вследствие увеличения в 3 раза ЛИИ.

В постинфузионном периоде ИИ продолжал увеличиваться и к 3 ч после терапии превышал исходное значение в 52,7 раза, что было, однако, в 5,3 и 3,92 раза меньше, чем после введения НОБ и димефосфона. Через 24 ч после лечения ЛИИ и ИИ были больше контрольных значений в 23,5 и 138,79 раз. В постинфузионном периоде содержание мочевины плазмы снижалось и к 3 ч недостоверно отличалось от нормы. Затем вследствие усиления белкового катаболизма и нарушения функции почек концентрация мочевины повышалась и к 1 суткам составляла 167,29% от контрольного уровня.

Таблица 1. Содержание малонового диальдегида (мкмоль/л) и активность каталазы (мккат/л) при введении кровезаменителей и мексидола (50 мг/кг)

Этапы исследований	Стат. показатели	Внутривенно		Внутрикостно	
		МДА	Каталаза	МДА	Каталаза
Исходные данные	n	133	133	133	133
	M±m	8,90±0,55	2,10±0,12	8,90±0,55	2,10±0,12
Травма	n	133	133	133	133
	M±m	15,92±0,8	1,26±0,10	15,92±0,86	1,26±0,10
	P	6 <0,001	<0,01	<0,001	<0,01
1 ч после травмы	n	133	133	133	133
	M±m	18,56±0,9	1,12±0,10	18,56±0,96	1,12±0,10
	P	6 <0,001	<0,01	<0,001	<0,001
После лечения	n	9	9	9	9
	M±m	12,77±0,9	1,82±0,15	12,71±1,32	1,57±0,09
	P	1	>0,05	<0,01	<0,01
	P ₁	<0,001	<0,01	<0,001	<0,001
	P ₂	<0,001	<0,01	>0,05	>0,05
1 ч после лечения	n	9	9	9	9
	M±m	13,01±0,9	1,85±0,17	13,41±1,08	1,52±0,11
	P	6	>0,05	<0,001	<0,01
	P ₁	<0,001	<0,01	<0,001	<0,01
	P ₂	<0,001	<0,01	>0,05	>0,05
3 ч после лечения	n	9	9	9	9
	M±m	13,77±0,8	1,92±0,23	13,06±1,06	1,60±0,14
	P	7	>0,05	<0,01	<0,05
	P ₁	<0,001	<0,01	<0,001	<0,01
	P ₂	<0,01	<0,01	>0,05	>0,05
5 ч после лечения	n	9	9	9	9
	M±m	12,94±1,0	1,88±0,23	13,18±1,32	1,58±0,14
	P	1	>0,05	<0,01	<0,05
	P ₁	<0,001	<0,05	<0,001	<0,01
	P ₂	<0,001	<0,05	>0,05	>0,05
24 ч после лечения	n	4	4	8	8
	M±m	11,67±2,6	2,71±0,24	10,88±1,83	2,19±0,12
	P	1	>0,05	>0,05	>0,05
	P ₁	>0,05	<0,001	<0,001	<0,001
	P ₂	<0,05	<0,001	>0,05	>0,05

Примечание: P – достоверность отличий относительно исходных данных; P₁ – достоверность отличий относительно 1 ч после травмы; P₂ – достоверность отличий при использовании в/к инфузий относительно в/в введения

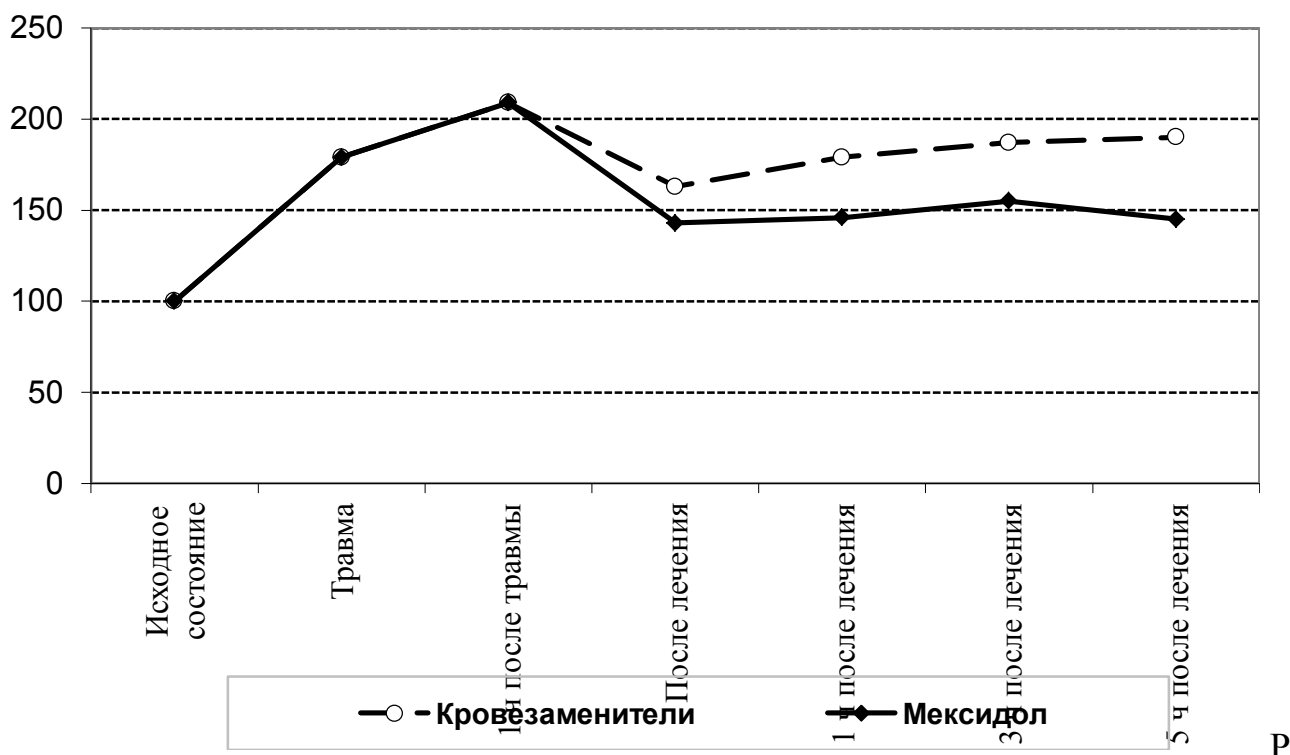


рис. 3. Содержание малонового диальдегида при в/в введении кровезаменителей и мексидола (50мг/кг)

Известно, что в состав ВНиСММ входят конечные продукты обмена, в том числе и органические кислоты. После вливания кровезаменителей и мексидола увеличение молочной кислоты происходило более интенсивно, чем пировиноградной, вследствие активизации анаэробного гликолиза. Поэтому отношение лактат/пируват сразу после лечения возрастало на 57,26 % относительно 1 ч посттравматического периода, затем постепенно снижалось и к 3 ч на 42,86 % превышало исходное значение (рис. 2). С 5 ч постинфузионного периода накопление лактата увеличивалось и к 1 суткам отношение лактат/пируват равнялось 208,57 % от нормы. Одновременно с этим после лечения активность ЛДГ снижалась на 19,95 %, хотя и превышала начальную величину в 4,3 раза. К 1 ч постинфузионного периода концентрация фермента была минимальной и составляла 311,62 % от исходной, затем ее активность вновь возрастала и к 1 суткам после повреждения в 7 раз была больше начальной (рис. 1), обуславливая восстановление пирувата в лактат и рост соотношения лактат/пируват. Подобная динамика метаболитов углеводного обмена связана, видимо, с интенсификацией гликолиза и вымыванием недоокисленных продуктов обмена в кровотоки при реперфузии. Однако, эти метаболические нарушения при в/в введении мексидола были менее выражены, чем после вливания одних кровезаменителей.

Ослабление свободнорадикальных реакций под влиянием мексидола проявлялось снижением МДА на 31,2% относительно 1 ч посттравматического периода, что было обусловлено ростом каталазной активности плазмы на 62,50 % (табл. 1). В постинфузионном периоде содержание МДА оставалось на относительно низких значениях, превышающих исходные на 45–54 %. Подобная

динамика реакций ПОЛ объяснялась достаточно высоким уровнем АОЗ: активность КА составляла 88–91 % от нормы. Особенностью данного лечения было прогрессирующее снижение концентрации МДА, чего не наблюдалось после введения НОБ или димефосфона (рис. 3). К 1 суткам содержание МДА было минимальным и составляло 131,12% от начального значения. О сохранении резервных возможностей АОС свидетельствовал больше нормы на 29,05% уровень каталазной активности через 24 ч после травмы, что отсутствовало после введения НОБ и димефосфона (рис. 3).

Использование в/к инфузий уменьшало явления ПОЛ: содержание МДА падало на 31,52% вследствие роста каталазной активности плазмы на 40,18% (при в/в способе она повышалась на 62,50 %, $P > 0,05$). В постинфузионном периоде концентрация МДА, как и после в/в вливаний, сохранялась на низких значениях, хотя при этом активность КА была меньше, чем при использовании в/в способа (табл. 1). К 1 суткам после травмы содержание МДА превышало норму всего на 22,25 % и составляло 93,23% от аналогичного показателя после в/в инфузии мексидола ($P > 0,05$). Подобное угнетение реакций ПОЛ в посттравматическом периоде обуславливалось оптимизацией каталазной активности, составляющей 104,29% от нормы.

Таким образом, в/к введение мексидола корригировало оба звена эндотоксикоза в посттравматическом периоде: уменьшало содержание ВНиСММ в плазме крови и оптимизировало реакцию АОЗ. Известно, что при гипоксии наблюдается разобщение тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования из-за выключения из цепи ферментов тканевого дыхания. Возможно, мексидол в определенной мере предупреждает повреждение этой цепи, оказывает антигипоксическое действие, что оптимизирует деятельность ферментов АОЗ и лимитирует ПОЛ при комбинированной травме.

В/в введение кровезаменителей оказывало определенное дезинтоксикационное действие вследствие улучшения микроциркуляции, регионарного и органного кровообращения, адсорбции токсинов и выведения их почками. Однако, этот эффект был кратковременным: общий пул ВНиСММ возрастал до 132,88% от нормы к 5 ч постинфузионного периода. Вливание гемокорректоров ограничивало реакции ПОЛ – содержание МДА падало на 21,82 % с последующим ростом к 5 ч до 190,22 % от контрольной величины. Подобное угнетение свободнорадикальных реакций обуславливалось выраженным напряжением АОС и расходом каталазы на ингибирование реакций ПОЛ – к 5 ч после инфузии активность фермента составляла всего 63,81 % от нормы. О значительной ЭИ в постинфузионном периоде свидетельствовало выше нормы в 103,45 раза значение ИИ. Выраженная эндотоксемия пагубно влияла на органы детоксикации с развитием олигоурии к 5 ч (диурез составлял всего 7,99 % от исходного).

Мексидол обладал мощным дезинтоксикационным действием. Хотя после его введения общий пул ВНиСММ возрастал и превышал аналогичные показатели при использовании других антигипоксантов к 5 ч на 28,91 и 17,06 %, это связано, видимо, с разблокированием микроциркуляторного русла и поступлением токсических веществ в общий кровоток. Мексидол, обладал

выраженной антиоксидантной активностью, что проявлялось значительным угнетением ПОЛ. Содержание МДА после его применения падало на 31,20%, к 5 ч. Подобное ограничение реакций ПОЛ обуславливалось высокой каталазной активностью плазмы, свидетельствующей о повышении АОС в постинфузионном периоде. Другой отличительной особенностью дезинтоксикационного эффекта мексидола являлось повышение КУБ на 38,71 % по сравнению с нормой и сохранение его в пределах нормальных величин до 24 ч постинфузионного периода. Относительно низкие величины ИИ, а также рост диуреза на 136,81 % по сравнению с данными 1 ч посттравматического периода и сохранение его в пределах 84 % от нормы к 5 ч после лечения также подтверждали выраженное дезинтоксикационное действие мексидола.

Дезинтоксикационное действие у мексидола было обусловлено в большей степени выраженным ослаблением СРО, чем элиминацией из организма ВНиСММ. Однако, учитывая значительное диуретическое действие препарата, возможен рост выведения различных метаболитов обмена веществ и продуктов распада обожженных тканей из организма почками в постинфузионном периоде.

Особенностью дезинтоксикационного действия мексидола был рост содержания ВНиСММ в плазме, связанный, видимо, с разблокированием микроциркуляторного русла и поступлением различных метаболитов в общий кровоток. Другим отличительным свойством препарата являлось значительное антирадикальное действие, проявляющееся угнетением реакций ПОЛ. Падение содержания МДА на 31,20% после инфузии мексидола обуславливалось ростом каталазной активности плазмы, свидетельствуя о повышении АОС организма. Третьей отличительной особенностью дезинтоксикационного действия антиоксиданта было повышение устойчивости белка на 38,71% и сохранение его в пределах нормы в течение 24 ч посттравматического периода. Из трех использованных антиоксидантов мексидол в большей степени оптимизировал функционирование механизмов детоксикации. Высокое содержание ВНиСММ после его применения не достигало критических значений, поскольку вследствие улучшения деятельности печени и почек за счет гепато- и ренопротекторного эффекта препарата происходила элиминация метаболитов обмена и других токсических веществ из организма животных.

Применение в/к способа введения кровезаменителей и антиоксиданта также снижало проявление ЭИ в посттравматическом периоде. После в/к инфузии мексидола уровень ВНиСММ был ниже аналогичного показателя при в/в введении и к 5 ч эта разница возрастала до 13,77%. Антирадикальный эффект мексидола мало зависел от способа его инфузии. Внутрикостные вливания гемокорректоров и антиоксидантов в большей степени, чем использование в/в способа, улучшали функцию почек.

Включение аутокрови в состав лечения в большей мере, чем терапия без нее, уменьшало явления ЭИ. Торможение реакций ПОЛ после в/к введения мексидола и аутокрови было выраженнее, чем при использовании в/в способа, что обуславливалось ростом каталазной активности. После гемотрансфузий ИИ уменьшался, что отсутствовало при других способах лечения. Однако, к 1 суткам после повреждения нарушения гомеостаза у животных после гемотрансфузии

усугублялись более быстрыми темпами, возможно, вследствие развивающейся гемоконцентрации и ухудшения микроциркуляции.

Применение мексидола (50 мг/кг) способствовало более длительной (до 5 ч) стабилизации основных гемодинамических показателей и оптимальному распределению жидкости в организме животных в постинфузионном периоде. Отек клетки при этом не развивался, поскольку внутриклеточный объем жидкости было нормальным; жидкость медленно покидала сосудистое русло, однако значения ИЖ при этом были меньше, чем при введении кровезаменителей, НОБ или димефосфона. Корректирующий эффект мексидола на ионный баланс сохранялся также длительное время – до 5 ч, а гиперкалиемия и другие признаки трансминерализации проявлялись лишь к 1 суткам после повреждения. За счет сохранения на высоком уровне диуреза электролитвыделительная функция почек нарушалась в меньшей степени, чем при использовании других антиоксидантов. Установлено, что в/к инфузии мексидола были эффективнее в/в и повышали продолжительность жизни животных до $83,86 \pm 12,01$ ч.

Заключение

Таким образом, антиоксидант мексидол оказывает корректирующее влияние на показатели эндотоксикоза при комбинированной травме. Его дезинтоксикационный эффект в большей степени обусловлен значительным ослаблением свободнорадикального окисления вследствие роста каталазной активности и элиминацией токсических метаболитов из организма животных в постинфузионном периоде.

Список литературы

1. Байлов В.В., Гореев И.С., Федоткин О.В. Опыт работы трассового пункта медицины катастроф // Актуальные вопросы медицины катастроф: Материалы Всерос. науч.-практ. конф. М.: ВЦМК «Защита», 2000. С. 88-90.
2. Сахно И.И. Проблемы подготовки населения к оказанию первой медицинской помощи в чрезвычайных ситуациях // Актуальные вопросы медицины катастроф: Материалы Всерос. науч.-практ. конф. М.: ВЦМК «Защита», 2000. С. 58-62.
3. Галеев И.К., Рудаев В.И. Опыт организации управления службой медицины катастроф при ликвидации медико-санитарных последствий чрезвычайных ситуаций в шахтах Кузбасса // Актуальные вопросы медицины катастроф: Материалы Всерос. науч.-практ. конф. М.: ВЦМК «Защита». 2000. С. 29-32.
4. Нечаев Э.А., Фаршатов М.И. Военная медицина и катастрофы мирного времени / под ред. Э.А. Нечаева. М.: НИО «Квартет», 1994. 320 с.
5. Атясов Н.И. Вливание в венозное русло костей как метод выбора в экстремальной медицине // Новое в трансфизиологии. 1997. Вып. 17. С. 13-19.
6. Ерюхин И.А. «Синдром полиорганной недостаточности». Сущность понятия и корректность обозначения // Вестник хирургии. 2000. Т. 159. № 4. С. 12-19.

7. Gosling P. The cellular, immune, and metabolic response to trauma // *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 1998. Vol. 35. № 1. P. 59-112.
8. Беляев А.Н. Морфологические основы «шокового легкого» при комбинированной травме // *Актуальные проблемы комбустиологии, реаниматологии и экстремальной медицины: Мат. Всеросс. симп.* Саранск: Тип. «Красный Октябрь», 2001. С. 19-21.
9. Зильбер А.П., Шифман Е.М. Этюды критической медицины. Петрозаводск. 1997. Т. 3. С. 253-287.
10. Бояринов Г.А., Соколов В.В. Озонированное искусственное кровообращение (экспериментальное обоснование и результаты клинического применения). Н. Новгород: Покровка, 1999. 318 с.
11. Лукьянова Л.Д. Новые подходы к созданию антигипоксантов метаболического действия // *Вестник РАМН.* 1999. № 3. С. 18-25.
12. Смирнов А.В., Криворучко Б.И. Антигипоксанты в неотложной медицине // *Анестезиология и реаниматология.* 1998. № 2. С. 50-55.
13. Goode H.F., Cowlei H.C., Walker B.E. et al. Decreased antioxidant status and increased lipid piroxides in patients with septic shock and secondary organ dysfunction // *Crit. Care Med.* 1995. Vol. 23. P. 646-651.
14. Tanaka H., Matsuda T., Miyagantani Y. et al. Reduction of resuscitation fluid volumes in severely burned patients using ascorbic acid administration: a randomized, prospective study // *Arch. Surg.* 2000. Vol. 135, № 3. P. 326-331.
15. Ремизова М.И., Кочетыгов Н.И., Макеев А.Б. Экспериментальное обоснование применения антигипоксических средств для повышения эффективности инфузионной терапии шока // *Актуальные вопросы службы крови и трансфузиологии: Тезисы докладов Рос. конф. СПб.* 1995. С 251-252.
16. Биленко М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов (молекулярные механизмы, пути предупреждения и лечения). М.: Медицина, 1989. 368 с.
17. Климов А.Г., Кошиль Ю.Е., Тарасенко М.Ю. Поддержка гемодинамического статуса при проведении интенсивной терапии ожогового шока // *Комбустиология на рубеже веков: Материалы Междунар. конгресса.* М., 2000. С. 101-102.
18. Виноградов В.М., Смирнов А.В. Антигипоксанты – важный шаг на пути разработки фармакологии энергетического обмена // *Антигипоксанты и актопротекторы: итоги и перспективы: Материалы конф. СПб, 1994. Вып. 1* С. 23.
19. Кочетыгов Н.И., Ремизова М.И. Роль антиоксидантов и антигипоксантов в уменьшении явлений реперфузии при инфузионной терапии шока и кровопотери // *Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии: Материалы науч.-практ. конф. СПб., 2000.* С. 294.
20. Kanter M. M. Free radicals, exercise and antioxidant supplementation // *Int. J. Sport Nutz.* 1994. Vol. 4, № 3. P. 205-220.
21. Кочетыгов Н.И., Макеев А.Б., Ремизова М.И. Применение новых солевых растворов при ожоговом шоке в эксперименте // *Гематология и трансфузиология.* 1997. № 4. С. 39-42.

22 Назаров И.П., Винник Ю.С. Интенсивная терапия критических состояний (Лекционный курс). Т. 1. Красноярск, 2002. 249 с.

СОСТОЯНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО МЕТАБОЛИЗМА КРОВИ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ СТЕРОФУНДИНА У ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ

А.В. Дерюгина¹, Н.Ю. Тарасова¹, Г.А. Бояринов²

¹ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»

²ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России

Abstract

The *aim of the work* was to study the dynamics of parameters of oxidative metabolism of blood under the using Sterofundin in patients with ischemic stroke.

Material and methods. The study included male patients (n=15) aged 55 to 70 years with a diagnosis of "ischemic stroke". Patients were injected with 500 ml/day of Sterofundin into the subclavian vein with a drip within 3 hours of stroke. Administration of the drug was carried out on the first, second and third day of resuscitation therapy. The control was the blood of healthy donors (n=15), comparable in age with patients of the main group. The blood levels of malonic dialdehyde and the concentration of oxidized and reduced glutathione were determined in the blood of all examined subjects.

Results. It was found that patients with ischemic stroke have signs of oxidative stress (increase in the level of malonic dialdehyde, decrease in the concentration of glutathione). The use of "Sterofundin" contributes to the partial normalization of these indicators for 2-3 days of treatment.

Key words: ischemic stroke, sterofundin, oxidative stress, electrophoretic mobility of erythrocytes

Целью работы явилось исследование динамики параметров окислительного метаболизма крови при использовании Стерофундина у больных с ишемическим инсультом.

Материал и методы. В исследование были включены пациенты-мужчины (n=15) в возрасте от 55 до 70 лет с диагнозом «ишемический инсульт». Пациентам не позднее 3 часов с момента инсульта вводили 500 мл/сутки «Стерофундина» в подключичную вену внутривенно капельно. Введение препарата осуществляли на первые, вторые и третьи сутки реанимационной терапии. Контролем выступала кровь здоровых доноров (n=15), сопоставимых по возрасту с пациентами основной группы. В крови всех обследованных лиц определяли уровень малонового диальдегида, а также концентрацию окисленного и восстановленного глутатиона.

Результаты. Установлено, что у пациентов с ишемическим инсультом имеют признаки окислительного стресса (нарастание уровня малонового

диальдегида, снижение концентрации глутатиона). Применение «Стерофундина» способствует частичной нормализации указанных показателей уже на 2-3 сутки лечения.

Ключевые слова: ишемический инсульт, стерофундин, окислительный стресс, электрофоретическая подвижность эритроцитов

К наиболее распространенным заболеваниям зрелого, пожилого и, в последние десятилетия, молодого возраста, относятся острые нарушения мозгового кровообращения (ОНМК) [1, 2]. По данным международных эпидемиологических исследований, ежегодно в мире от инсульта умирают 4,7 млн. человек, а частота инсультов, по материалам Всемирной Организации Здравоохранения, составляет 1,5–7,4 на 1000 населения [3]. Среди причин смертности цереброваскулярные заболевания занимают второе место после сердечно-сосудистых заболеваний [1, 3].

Приведенные данные свидетельствуют о необходимости активного поиска путей совершенствования реабилитационного процесса пациентов, перенесших инсульт [4, 5]. По мнению ряда авторов, в комплексе восстановительных мероприятий особую значимость приобретает своевременное и адекватное медикаментозное лечение [6, 7].

Несмотря на имеющиеся фундаментальные работы в области изучения патогенетических процессов, протекающих в остром периоде ишемического инсульта (ИИ), важным и актуальным остается изучение окислительно-восстановительных процессов при данном патологическом состоянии [3, 8]. В первую очередь это обусловлено тем, что активация свободнорадикальных процессов при ишемии мозга приводит к развитию окислительного стресса, являющегося одним из универсальных механизмов повреждения тканей [8-10].

Целью работы явилось исследование динамики параметров окислительного метаболизма крови при использовании Стерофундина у больных с ишемическим инсультом в условиях реанимационной терапии.

Материал и методы исследования

В исследование были включены пациенты (n=15) мужского пола в возрасте от 55 до 70 лет с диагнозом «ишемический инсульт» (ИИ). Обследование больных проводилось на базе ГБУЗ НО «Нижегородская областная клиническая больница им. Н.А. Семашко» (г. Нижний Новгород). Пациентам не позднее 3 часов с момента инсульта вводили 500 мл/сутки «Стерофундина» в подключичную вену внутривенно капельно. Введение препарата осуществляли на первые, вторые и третьи сутки реанимационной терапии. Образцы крови были взяты до и после внутривенного введения «Стерофундина» в течение 3 суток. Контролем выступала кровь здоровых доноров (n=15), сопоставимых по возрасту с пациентами основной группы.

В крови представителей обеих групп (пациентов и здоровых доноров) определяли концентрацию малонового диальдегида в эритроцитах методом фотоэлектрокалориметрии [11], а также уровень окисленного и восстановленного глутатиона в крови методом титрования по Вудворду-Фрей [12].

Проведение исследования было одобрено этическим комитетом клиники, все пациенты или их родственники дали письменное информированное согласие на участие в исследовании.

Полученные данные были обработаны методами вариационной статистики в программном пакете Statistica 6.0. Нормальность распределения значений параметров оценивали с использованием критерия Шапиро-Уилка. Данные представляли в форме средних значений показателей и их среднеквадратичного отклонения. С учетом характера распределения признака для оценки статистической значимости различий применяли Н-критерий Краскала-Уоллеса.

Результаты исследования и обсуждение

Установлено, что в острый период инсульта (до начала введения «Стерофундина») определяются существенные сдвиги содержания в крови пациентов вторичного продукта ПОЛ – малонового диальдегида (табл. 1).

Таблица 1. Динамика изменения концентрации малонового диальдегида в крови пациентов с инсультом до и после введения Стерофундина

Сроки введения препарата, сутки	Концентрация МДА (нМоль/мл) в крови, $M_{cp} \pm m$			
	1	2	3	Доноры (n=15)
До (n=15)	17,82±0,80 *	12,70±0,50* #	13,18±0,51*#	10,7 ± 0,8
После (n=15)	15,61±0,61 *#	16,93±0,70*	14,65±0,60*#	

Примечание: * - статистически значимые различия по отношению к показателю физиологической нормы ($p < 0,05$); # - $p < 0,05$ по сравнению с исходным значением (показатель до проведения терапии)

В начале исследования при применении «Стерофундина» уровень малонового диальдегида (МДА) составил 15,61±0,61 нМоль/мл (табл. 1). Данный показатель у пациентов, перенесших инсульт, был значительно выше физиологических значений. Повышение содержания биомаркеров окислительного стресса у пациентов, перенесших инсульт, было продемонстрировано ранее и другими авторами [13, 14].

В некоторых исследованиях было показано, что уровень МДА выше у лиц с острым инсультом по сравнению с контрольной группой [13, 15]. Тем не менее, данные, касающиеся динамики изменения содержания МДА, недостаточно ясны. Так, S. Demirkaaya с соавт. (2001) обнаружили повышение содержания МДА через 24 часа, но не через семь дней после инсульта [13], тогда как P.C. Sharpe с соавт. (1994), напротив, выявили нормальное его содержание при поступлении, но повышение содержания через 48 часов [16]. Были сообщения о постоянно повышенном уровне МДА при нескольких измерениях в течение первой недели после инсульта [17].

Объяснением наблюдаемых различий в динамике содержания МДА могут быть использование различных методик определения соединения или исходная

тяжесть инсульта. Наши результаты согласуются с большинством ранее проведенных исследований, демонстрирующих резкое повышение содержания метаболита, более того, оно может быть повышено даже в течение первых 3 часов.

Известно, что МДА является чрезвычайно токсичным соединением, обладающим высокой биологической активностью. Легко диффундируя через мембраны, МДА взаимодействует с азотистыми компонентами белков и нуклеотидных оснований ДНК, образуя еще более токсичные соединения [18]. После введения «Стерофундина» отмечено снижение концентрации МДА до $14,65 \pm 0,60$ нМоль/мл (на третьи сутки), что свидетельствует о снижении интенсивности процесса ПОЛ (табл. 1). В ходе исследования при применении изучаемого препарата уровень МДА в крови пациентов с ИИ приближался к физиологическим значениям, характерным для лиц контрольной группы. Таким образом, можно предположить, что использование «Стерофундина» способствовало угнетению интенсивности процесса ПОЛ, повышенной в постинсультном периоде, что может быть обусловлено активацией антиоксидантной системы защиты эритроцитов.

Таблица 2. Влияние терапевтического использования Стерофундина на уровень восстановленного и окисленного глутатиона в крови пациентов (n=15) с инсультом до и после введения препарата

Концентрация глутатиона в крови (мкмоль/л), $M_{cp} \pm m$								
	Восстановленный глутатион				Окисленный глутатион			
	Сроки введения			Доноры (n=15)	Сроки введения			Доноры (n=15)
	1 сутки	2 сутки	3 сутки		1 сутки	2 сутки	3 сутки	
До введения	13,05 $\pm 0,31$ *	14,25 $\pm 0,40$ *	15,39 $\pm 0,30$ *	40,58± 0,7	4,99± 0,20*#	4,39± 0,11*#	6,05± 0,20*	9,43± 0,2
После введения	14,39 $\pm 0,50$ *	15,79 $\pm 0,51$ *#	16,93 \pm 0,41*#		3,84± 0,10*#	7,46± 0,40*	8,51± 0,31*	

* - статистически значимые различия по отношению к показателю физиологической нормы ($p < 0,05$); # - $p < 0,05$ по сравнению с исходным значением (показатель до проведения терапии)

Церебральная ишемия генерирует энзимы и субстраты, которые могут образовывать свободные радикалы, включающие цепные реакции «повреждения» с фрагментацией мембранных фосфолипидов [18]. Цитотоксичность активных форм кислорода проявляется посредством индукции процессов липопероксидации, инактивации ферментов и повреждения мембраносвязывающих белков [19, 20]. На этом фоне активизируется совокупность механизмов антиоксидантной защиты, одним из компонентов которой является система глутатиона.

В таблице 2 представлены результаты исследования концентрации глутатиона в крови пациентов в ходе применения «Стерофундина». Исследование данного показателя показало значительное снижение окисленного и восстановленного глутатиона у больных до проведения метаболической коррекции. При использовании «Стерофундина» наблюдалось увеличение содержания как окисленной, так и восстановленной формы глутатиона. Наиболее выраженные изменения были выявлены на 3 сутки эксперимента: концентрация окисленной формы глутатиона возросла на 70%, восстановленной – на 30% относительно показателей до назначения «Стерофундина».

Полученные результаты соответствуют результатам работ некоторых авторов, согласно клиническим наблюдениям которых, уже в первые часы после инсульта в крови происходит снижение концентрации глутатиона [19]. Увеличение концентрации глутатиона, обнаруженное в результате проведенного исследования, потенциально связано с развитием метаболических перестроек, направленных как на усиление синтеза, так и восстановление окисленной формы глутатиона. Антиоксидантные свойства глутатиона определяются как непосредственным взаимодействием с активными формами кислорода и обменными реакциями с дисульфидными связями, а также с функционированием ряда ферментов глутатионового цикла, в том числе глутатионпероксидазы и глутатион-S-трансферазы. Полученные результаты свидетельствуют, что рост содержания глутатиона, по всей видимости, связан с активацией компенсаторно-приспособительных реакций в эритроцитах, приводящих к индукции синтеза глутатиона на фоне повышения активности ПОЛ. Нормализация окислительно-восстановительного потенциала эритроцитов, возможно, запускает восстановительные процессы в мембране.

Заключение

Таким образом, у пациентов с ишемическим инсультом имеют признаки окислительного стресса (нарастание уровня малонового диальдегида, снижение концентрации глутатиона). Применение «Стерофундина» способствует частичной нормализации указанных показателей уже на 2-3 сутки лечения. Компенсаторные реакции при использовании «Стерофундина» могут быть связаны с увеличением уровня глутатиона, антиоксидантные свойства которого определяются как непосредственным взаимодействием с АФК и обменными реакциями с дисульфидными связями, так и функционированием ряда ферментов глутатионового цикла, в том числе глутатионпероксидазы и глутатион-S-трансферазы. В свою очередь, уменьшение концентрации МДА, который, взаимодействуя с N-концевыми остатками аминокислот и аминокетонами фосфолипидов, является одной из причин снижения способности эритроцитов к деформации. Это свидетельствует о восстановлении подвижности эритроцитов и, в целом, текучести крови. Полученные данные позволяют говорить, что использование «Стерофундина» способствует улучшению микроциркуляции и, следовательно, осуществлению реперфузии тканей мозга у пациентов с ишемическим инсультом.

Список литературы

1. Суслина З.А., Максимова М.Ю., Кистенев Б.А., Федорова Т.Н. Нейропротекция при ишемическом инсульте: эффективность милдроната // Фарматека. 2005. №13. С. 56.
2. Ажермачева М.Н., Плотников Д.М., Алиев О.И., Алифирова В.М., Плотников М.Б., Буркова К.И. Реологические свойства крови в острейший период ишемического инсульта и их взаимосвязь со степенью тяжести неврологических нарушений // Бюллетень сибирской медицины. 2013. Т. 12, №5. С. 5-12.
3. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. Москва: Медицина, 2001.
4. Верещагин Н.В. Гетерогенность инсульта: взгляд с позиции клинициста // Инсульт. Приложение к журналу неврологии и психиатрии имени С.С. Корсакова. 2003. №9. С. 8-9.
5. Камаева О.В., Монро П. Мультидисциплинарный подход в ведении и ранней реабилитации неврологических больных. Санкт-Петербург, 2003.
6. Колесниченко И.П., Ждан И.Л. Ранняя реабилитация больных с острым нарушением мозгового кровообращения на базе нейрососудистого реабилитационного отделения санатория «Северная Ривьера». Санкт-Петербург. 2002. С. 46-50.
7. Демиденко Т.Д., Ермакова Н.Г. Основы реабилитации неврологических больных. Санкт-Петербург: Фолиант, 2004.
8. Меньщикова Е.Б. с соавт. Окислительный стресс: патологические состояния и заболевания. Новосибирск: АРТА, 2008.
9. Костюк В.А., Потапович А.И. Биорадикалы и биоантиоксиданты. Минск: БГУ; 2004.
10. Дерюгина А.В., Мартусевич А.А., Веселова Т.А. Молекулярно-клеточные механизмы реализации стресс-реакции организма. Известия Уфимского научного центра РАН. 2015. №3. С. 58-63
11. Крылов В.Н., Дерюгина А.В., Плескова С.Н., Калинин В.А. Апоптозный характер гемолиза эритроцитов, индуцированный малыми дозами ионизирующей радиации. Биофизика. 2015. Т. 60, №1. С. 102-108.
12. Корягин А.С., Киреева В.Ф. Лабораторные работы большого практикума по физиологии и биохимии человека и животных. Нижний Новгород: Нижегородский государственный университет, 1991. 24 с.
13. Demirkaya S., Topcuoglu M.A., Aydin A., Ulas U.H., Isimer A.I., Vural O. Malondialdehyde, glutathione peroxidase and superoxide dismutase in peripheral blood erythrocytes of patients with acute cerebral ischemia // Eur. J. Neurol. 2001. №5. P. 43-51.
14. Ozkul A., Akyol A., Yenisey C., Arpaci, Kiylioglu N., Tataroglu C. et al. Oxidative stress in acute ischemic stroke // J. Clin. Neurosci. 2007. №6. P. 1062-1066.
15. Cano C.P., Bermudez V.P., Atencio H.E. et al. Increased serum malondialdehyde and decreased nitric oxide within 24 hours of thrombotic stroke onset // Am. J. Ther. 2003. P. 473-476.

16. Sharpe P.C., Mulholland C., Trinick T. Ascorbate and malondialdehyde in stroke patients // *Ir. J. Med. Sci.* 1994. №5. P. 488-491.
17. Polidori MC, Cherubini A, Stahl W, Senin U, Sies H, Mecocci P. Plasma carotenoid and malondialdehyde levels in ischemic stroke patients: relationship to early outcome // *Free Radic. Res.* 2002. Vol. 36, №3. P. 265-268.
18. Дюба Д.Ш. Состояние антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов у больных, перенесших каротидную эндартерэктомию, в течение первых семи суток под влиянием Цераксона // *Международный неврологический журнал.* 2010. №4. С. 14-16.
19. Zimmermann C., Winnefeld K., Streck S., Roskos M., Haberl R.L. Antioxidant status in acute stroke patients and patients at stroke risk // *Eur. Neurol.* 2004. Vol. 51, №3. P. 157-161.
20. 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.

ВОЗМОЖНОСТИ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ ДЕТОКСИКАЦИИ ОЗОНОМ ПРОЯВЛЕНИЙ ЭНДОТОКСЕМИИ У НЕЙРООНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ В ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ

С.Л. Лебедь, Г.А. Бояринов

ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет»

Минздрава России, Нижний Новгород

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

Abstract

The aim of the study is to justify the use of intravenous infusions of ozonated physiological solution in the treatment of postoperative 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 blood donors. Donors made up a control group, and patients divided into four main groups. A comprehensive study of functional and biochemical parameters of blood was performed before surgery, in the first, third, fifth day of the postoperative period. Samples of arterial and mixed venous blood were taken on an empty stomach in the morning. Arterial blood was obtained by puncturing the femoral artery, venous blood - from a catheter conducted through the subclavian vein into the right atrium. It was found that after the removal of malignant tumors of the brain against the background of standard therapy, there was an increase in the content of medium-weight molecules associated with arterial and venous erythrocytes relative to the preoperative period, and in patients with benign tumors of this dynamics of indicators were not observed. It was revealed that the inclusion of ozone therapy in the course of treatment of patients allowed to reduce the level of endotoxins on the membrane of arterial and venous red blood cells.

Key words: ozonized saline, oxidative detoxication, brain tumors, postoperative period

Цель исследования - обосновать применение внутривенных инфузий озонированного физиологического раствора в комплексе лечения послеоперационного периода больных после удаления новообразований головного мозга. Исследование основано на анализе результатов лечения 98 больных с опухолями головного мозга, находившихся в Межрегиональном нейрохирургическом центре, и обследования 30 доноров крови. Доноры составили контрольную группу, а больные - четыре исследуемые группы. 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. Выявлено, что после удаления злокачественных новообразований головного мозга на фоне традиционной терапии происходило повышение содержания молекул средней массы, связанных с артериальными и венозными эритроцитами относительно предоперационного периода, а у больных с доброкачественными новообразованиями данной динамики показателей не наблюдалось. Выявлено, что включение озонотерапии в курс лечения больных позволило снизить уровень эндотоксинов, находящихся на мембране артериальных и венозных эритроцитов.

Ключевые слова: озонированный физиологический раствор, окислительная детоксикация, опухоли головного мозга, послеоперационный период

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 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. Концентрацию озона в физиологическом растворе рассчитывали, руководствуясь данными, опубликованными Г.А. Бояриновым с соавт. (2000, 2002) [4, 5]. Она 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. Объем суточных инфузий составлял 200 мл. Продолжительность курса озонотерапии 4-5 дней в зависимости от уровня эндотоксикоза.

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, проведенного через подключичную вену в правое предсердие. Гепаринизацию крови проводили из расчета 0,01 мл гепарина на 100 мл крови.

Результаты

Нами исследована динамика развития послеоперационного эндотоксикоза и влияние на этот процесс внутривенных инфузий ОФР (табл. 1). Результаты исследования динамики содержания ВНиСММ, связанных с артериальными эритроцитами в периоперационный период у больных с доброкачественными неоплазиями ГМ представлены в таблице 1 и на рисунке 1.

До оперативного лечения достоверных межгрупповых отличий значений токсичности артериальных эритроцитов у больных 1 и 2 групп не наблюдалось.

На протяжении всего периода после резекции доброкачественных новообразований ГМ у больных 1 группы содержание ВНиСММ, связанных с артериальными эритроцитами не имело достоверных отличий от таковых, в дооперационном периоде. Озонотерапия, применяемая у больных 2 группы в послеоперационном периоде, способствовала снижению уровня ВНиСММ, связанных с артериальными эритроцитами. При этом определялось достоверное

отличие величины исследуемого показателя от такового у больных в 1 группе на 3 и 5 сутки послеоперационного периода.

Таблица 1. Содержание ВНиСММ (усл. ед.), связанных с эритроцитами артериальной крови у нейроонкологических больных [Ме (P25-P75)]

Группы больных	Периоды исследования			
	До операции	После операции, сутки		
		1	3	5
1 группа	27,0(25,5-28,9)	26,1(24,2-27,3)	27,9(26,9-28,7)	28,1(27,5-29,6)
2 группа (ОФР)	26,8(24,8-28,1)	25,4(23,5-28,0)	25,4(23,2-26,8)*	26,0(24,1-27,3)*
3 группа	26,0(24,2-27,8) ^{1;3;5}	28,8(28,0-29,7) ^o	30,7(28,3-32,5) ^o	29,1(28,1-35,2) ^o
4 группа (ОФР)	25,9(25,2-27,6) ³	27,9(26,7-30,1)	24,3(21,5-25,0) ^{o*}	24,9(23,5-28,2)

Примечание: O-достоверное отличие показателя относительно такового, полученного в предоперационном периоде; 1- достоверное отличие показателя относительно такового в 1 сутки после операции; 3- достоверное отличие показателя относительно такового на 3 сутки после операции; 5- достоверное отличие показателя относительно такового на 5 сутки после операции; *- достоверные отличия показателей в группах с одинаковой морфоструктурой новообразований ГМ

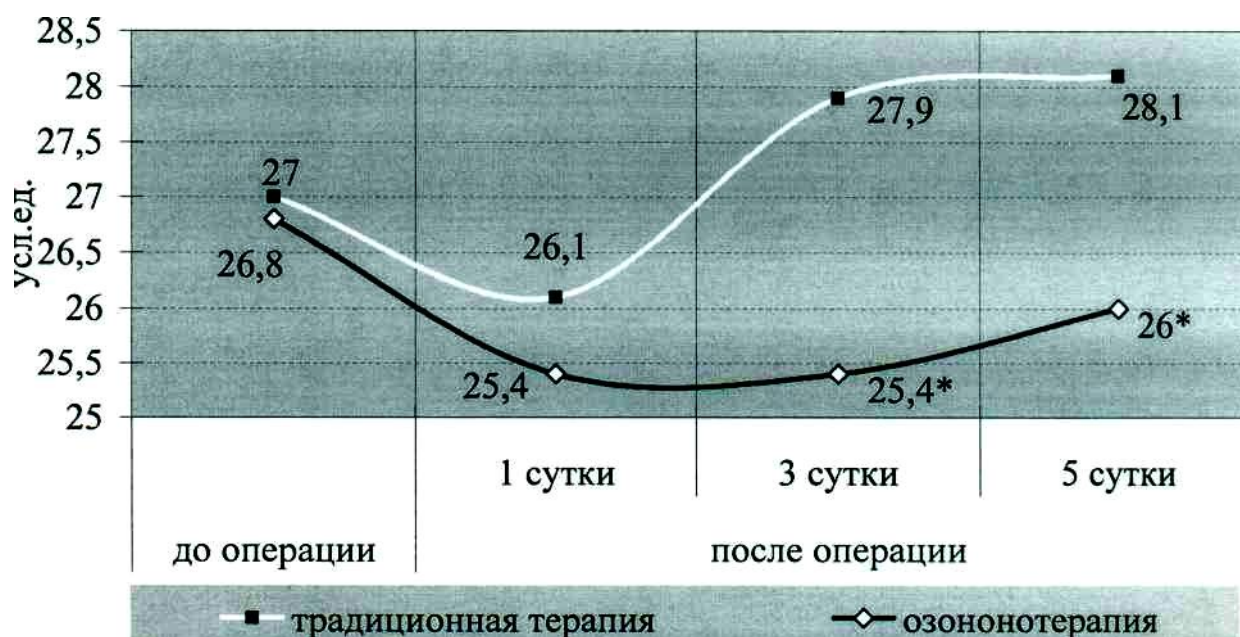


Рис.

1. Динамика содержания ВНиСММ, связанных с артериальными эритроцитами у больных с доброкачественными новообразованиями головного мозга в периоперационном периоде. Медианы. *- достоверные отличия показателя в сравниваемых группах на этапе контрольного времени

Иная картина наблюдалась у больных, имевших злокачественные новообразования ГМ (табл. 1).

До оперативного лечения содержание ВНиСММ, связанных с артериальными эритроцитами в группах 3 и 4 не имело достоверных межгрупповых отличий.

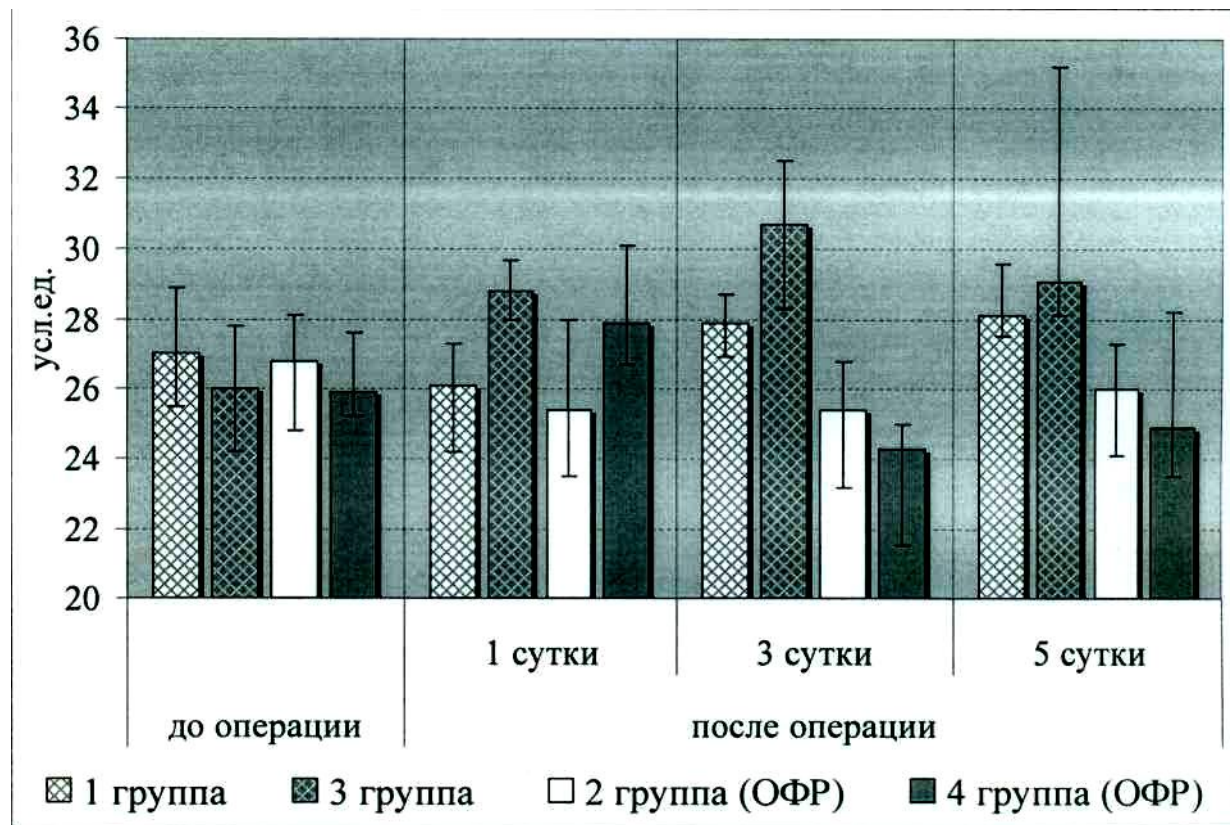


Рис. 2. Динамика содержания ВНиСММ, связанных с артериальными эритроцитами, у нейроонкологических больных в периоперационном периоде

В группе больных со злокачественными новообразованиями ГМ, получавших традиционную терапию, через сутки после операции определялось повышение содержания эндогенных токсинов на мембранах артериальных эритроцитов по сравнению с дооперационным уровнем, в дальнейшем их количество нарастало, достигнув максимума на 3 сутки, и оставалось высоким на 5 сутки.

При сопоставлении содержания эндотоксинов, связанных с эритроцитами артериальной крови у больных с разной морфологической структурой новообразований ГМ (табл. 1, рис. 2) было выявлено, что достоверных межгрупповых отличий величин на протяжении всего периода исследования не определялось. В тоже время, наблюдалось выраженное отличие динамических картин у больных разных групп морфологического строения: при отсутствии внутригрупповой динамики у больных 1 группы отмечалось достоверное повышение содержания ВНиСММ, связанных с артериальными эритроцитами, в послеоперационном периоде у больных 3 группы; при отсутствии внутригрупповой динамики у больных 2 группы, уровень эндотоксинов,

связанных с артериальными эритроцитами, у больных 4 группы на 3 сутки после оперативного лечения достоверно снижался относительно предоперационного.

Таблица 2. Содержание ВНиСММ (усл.ед.), связанных с эритроцитами венозной крови, у нейроонкологических больных [Ме (P25-P75)]

Группы больных	Периоды исследования			
	До операции	После операции, сутки		
		1	3	5
1 группа	26,3(23,6-27,8)	27,5(25,2-29,6)	26,1(25,4-27,7)	26,9(24,4-27,4) ^{&}
2 группа (ОФР)	26,0(24,1-28,3)	26,9(24,8-28,4)	26,4(24,7-28,2) ^{&}	26,8(24,9-27,3)
3 группа	25,4(22,1-26,7) ⁵	27,5(25,5-29,0)	27,3(25,6-28,6)	29,8(27,6-32,4) ^o
4 группа (ОФР)	25,2(23,3-27,1)	26,9(24,5-28,9) ³	22,2(19,2-23,8) ^{1*}	24,3(21,4-25,2) [*]
Контрольная группа	24,5 (23,2-25,8)			

Примечание: O-достоверное отличие показателя относительно такового, полученного в предоперационном периоде; 1- достоверное отличие показателя относительно такового в 1 сутки после операции; 3- достоверное отличие показателя относительно такового на 3 сутки после операции; 5- достоверное отличие показателя относительно такового на 5 сутки после операции; *- достоверные отличия показателей в группах с одинаковой морфоструктурой новообразований ГМ; & - достоверные отличия показателей в группах с разной морфоструктурой

Содержание и динамика эритроцитарных ВНиСММ венозной крови отражают ответ организма на хирургическую агрессию, степень протективного действия анестезиологического пособия, а также характеризует комплекс деструктивно-репаративных процессов, протекающих после удаления опухоли. Иными словами, опираясь на анализ показателей венозной эндотоксемии, можно проследить изменения баланса, составляющими частями которого являются: лизис повреждённых тканей, развивающийся реперфузионный синдром, степень напряжения детоксикационных механизмов, воздействие терапевтических мероприятий.

В связи с этим было проведено исследование содержания ВНиСММ, переносимых венозными эритроцитами, у нейроонкологических больных в периоперационный период (табл. 2).

До хирургического лечения доброкачественных новообразований ГМ не было обнаружено достоверных межгрупповых отличий содержания ВНиСММ, связанных с венозными эритроцитами, не только между больными 1 и 2 групп, но и относительно контрольной группы (табл. 2).

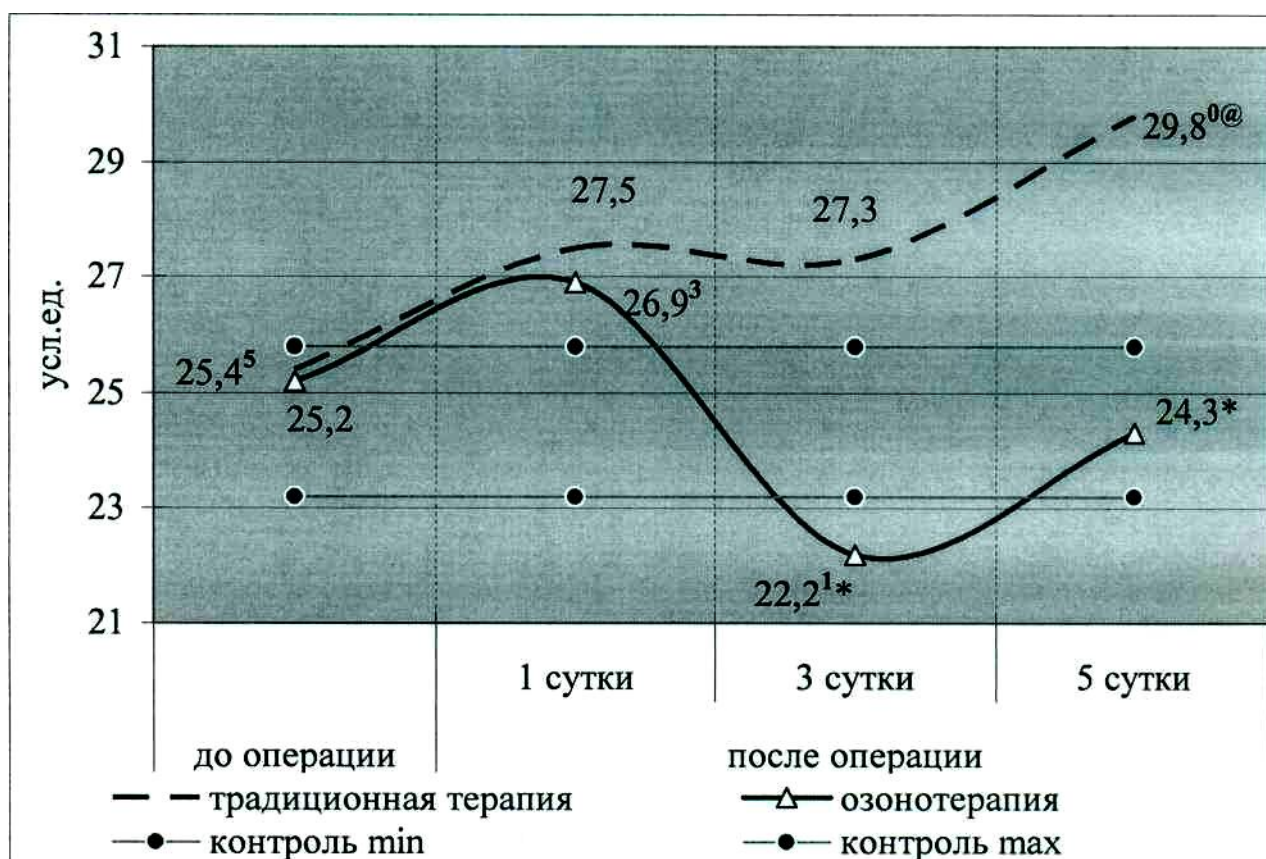


Рис. 3. Динамика содержания ВНиСММ, связанных с венозными эритроцитами у больных со злокачественными новообразованиями головного мозга. Медианы. 0- достоверные отличия показателя относительно полученного в предоперационном периоде; 1- достоверное отличие показателя относительно 1 суток после операции; 3- достоверное отличие показателя относительно 3 суток после операции; 5- достоверное отличие показателя относительно 5 суток после операции; *- достоверные отличия показателя в сравниваемых группах на этапе контрольного времени; @-достоверное отличие показателя относительно контрольной группы.

В 1 группе больных достоверных отличий предоперационных и послеоперационных величин токсичности венозных эритроцитов выявлено не было на протяжении всего периода наблюдения.

Внутривенные инфузии ОФР после удаления доброкачественных новообразований ГМ существенного влияния на динамику содержания ВНиСММ не произвели. Уровень токсичности венозных эритроцитов не претерпевал значимых изменений на протяжении всего раннего послеоперационного периода.

Динамика содержания эндотоксинов венозных эритроцитов в периоперационном периоде у больных со злокачественными новообразованиями ГМ представлена на рисунке 3.

Как следует из результатов анализа результатов представленных на рисунке 3, в предоперационном периоде не отмечались достоверные отличия показателей содержания связанных с венозными эритроцитами эндотоксинов у больных 3 и 4 групп. При этом их уровень не превышал таковой, наблюдавшийся в контрольной группе.

У больных 3 группы на 5 сутки после оперативного лечения, отмечали увеличение уровня содержания ВНиСММ, связанных с венозными эритроцитами, по сравнению с дооперационным уровнем. Величина токсичности венозных эритроцитов у больных данной группы в 1 и 3 сутки достоверно не отличалась ни от предоперационного уровня, ни от значений, определённых на 5 сутки. Следует отметить, что у пациентов со злокачественными неоплазиями ГМ, получавших традиционную терапию в послеоперационном периоде содержание ВНиСММ, связанных с эритроцитами венозной крови, достоверно превышало таковое в контрольной группе.

При включении в комплекс традиционной терапии инфузий ОФР у больных 4 группы на 3 сутки после удаления злокачественных новообразований ГМ, отмечалось снижение уровня эндотоксинов, связанных с венозными эритроцитами по сравнению с 1 сутками послеоперационного периода. В этот период наблюдения величина исследуемого показателя определялась меньше таковой у больных 3 группы. На 5 сутки послеоперационного периода токсичность венозных эритроцитов у больных 4 группы достоверно не отличалась от предоперационного уровня и от 1 суток, тем не менее, оставалась достоверно более низкой, чем в группе больных, не получавших озонотерапию. Уровень эндотоксинов, связанных с эритроцитами венозной крови, у больных со злокачественными новообразованиями ГМ, получавших озонотерапию в послеоперационном периоде на 3 и 5 сутки не имел достоверных отличий от такового контрольной группы.

В предоперационном периоде достоверных межгрупповых отличий содержания ВНиСММ, связанных с венозными эритроцитами, у больных с различной морфологической структурой новообразований ГМ выявлено не было (табл. 2).

В 1 и 3 группах больных достоверные отличия величин токсичности венозных эритроцитов определялись только на 5 сутки послеоперационного периода, когда содержание ВНиСММ у больных со злокачественными неоплазиями ГМ было достоверно выше такового у больных с доброкачественными неоплазиями ГМ. Для динамической картины содержания эндотоксинов, связанных с венозными эритроцитами, у больных, получавших традиционную терапию, было характерно отсутствие достоверных колебаний показателей на протяжении периода исследования при доброкачественных новообразованиях ГМ и нарастание данного показателя у больных со злокачественными новообразованиями ГМ.

Включение озонотерапии в комплекс послеоперационного лечения больных привело к изменению не только соотношения межгрупповых величин, но и динамической картины токсичности венозных эритроцитов в целом: на 3 сутки содержание эндотоксинов, связанных с венозными эритроцитами, у больных 4 группы было достоверно ниже такового у больных 2 группы, при этом снижение содержания ВНиСММ, связанных с венозными эритроцитами, отмечалось только у больных 4 группы.

Заключение

Анализ полученных результатов показал, что после удаления злокачественных новообразований ГМ, на фоне традиционной терапии

происходило повышение содержания ВНиСММ, связанных с артериальными эритроцитами относительно предоперационного периода, данной картины динамики показателей не наблюдалось у больных с доброкачественными новообразованиями ГМ. Выявлено, что у нейроонкологических больных, независимо от морфологического строения неоплазий ГМ, применение внутривенных инфузий ОФР позволило снизить уровень эндотоксинов, находящихся на мембране артериальных эритроцитов.

Также установлено, что на фоне традиционной терапии послеоперационного периода у нейроонкологических больных отмечается зависимость содержания ВНиСММ, связанных с венозными эритроцитами, от морфологической структуры новообразований ГМ: у пациентов с доброкачественными новообразованиями ГМ уровень эндотоксинов, связанных с венозными эритроцитами не изменяется и не превышает уровень контрольной группы, а у пациентов со злокачественными неоплазиями ГМ происходит увеличение исследуемого показателя, особенно на 5 сутки не только относительно дооперационного периода, но и относительно уровня контрольной группы. При этом включение озонотерапии в курс традиционного лечения послеоперационного периода нейроонкологических больных не приводит к достоверному снижению содержания ВНиСММ, связанных с венозными эритроцитами, у больных с доброкачественными новообразованиями ГМ, у больных со злокачественными новообразованиями ГМ позволяет снизить уровень эндотоксинов, связанных с венозными эритроцитами на 3 и 5 сутки послеоперационного периода до уровня величин контрольной группы.

Список литературы

1. Амчеславский В.Г., Брагина Н.Н., Доброхотова Д.А., Воронина И.А., Савин И.А., Алиева Н.А. Водно-электролитные нарушения в клинике послеоперационного периода при опухолях базально-диэнцефальной локализации // Вопросы нейрохирургии. 2002. №2. С.39-43.
2. Балязин В.А., Темиров Э.С. Итоги хирургического лечения внутричерепных менигеом за 30 лет // Вопросы нейрохирургии. 1999. №4. С. 20-25.
3. Вирозуб, И.Д. Изучение внутричерепного давления у больных с органическими поражениями головного мозга в острый послеоперационный период // Нейрохирургия (Киев). 1988. №21. С. 13-17.
4. Гублер Е.В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. Ленинград: Медицина, 1978.
5. Дворецкий Д.П. Вентиляция, кровообращение и газообмен лёгких. Физиология дыхания. Санкт Петербург: Наука, 1994. С. 197-257.
6. Ерюхин И.А. Эндотоксикоз как проблема клинической хирургии // Вестник хирургии.- 1989. №2. С.3-7.
7. Зильбер, А.П. Респираторная терапия в повседневной практике. Ташкент: Медицина, 1986. 400 с.

8. Идов И.Э. Аспекты применения озона в медицине // Анестезиология и реаниматология. 1997. №1. С. 90-93.
9. Каминский, Л.С. Статистическая обработка лабораторных и клинических данных. Ленинград: Медицина, 1964. 251с.
10. Кассиль В.Л., Лескин Г.С., Выжигина М.А. Респираторная поддержка. Москва: Медицина, 1997. С. 39-49.
11. Кованов В.В. Оперативная хирургия и топографическая анатомия. Москва: Медицина, 1995.- 398 с.
12. Лакин Г.Ф. Биометрия. Москва: Высшая школа, 1980.
13. Малахова М.Я. Метод регистрации эндогенной интоксикации. Санкт Петербург: СПб МАПО, 1995.
14. Меньшиков, В.В. Лабораторные методы исследования в клинике. Москва: Медицина, 1987. 365 с.
15. Оболенский С.В., Малахова М.Я., Ершов А.Д. Диагностика стадий ЭИ и дифференцированное применение методов эфференцированной терапии // Вестник хирургии. 1991. №3. С. 95-100.
16. Савин И.А., Амчславский В.Г., Брагина Н.Н., Коршунов А.Г., Воронина И.А. Анализ причин летальных исходов у больных детского возраста, находившихся в реанимационном отделении после удаления краниофарингеом //Анестезиология и реаниматология. 1996. №2. С. 70-74.

МОДУЛЯЦИЯ КАТАЛИТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ АЛЬДЕГИДДЕГИДРОГЕНАЗЫ ЭРИТРОЦИТОВ ЭКЗОГЕННЫМ МОНООКСИДОМ АЗОТА

А.К. Мартусевич, А.Г. Соловьева

ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет»

Минздрава России

Abstract

The aim of this work is estimation of effects and its mechanisms of gaseous nitric oxide and dinitrosyl iron complexes (DNIC) on catalytic activity of aldehyde dehydrogenase. We estimated the influence of different doses of free (NO concentration in gas flow – 20, 50, 100 and 800 ppm) and bounded (3 mM of DNIC) nitric oxide on aldehyde dehydrogenase activity in vitro.

It was observed that blood processing with gaseous nitric oxide from different NO-generators caused the moderate inhibition of aldehyde dehydrogenase activity. Use of DNIC low doses (lesser than 0,3 μmol) led to dose-dependent stimulation of enzyme catalytic. Increasing of DNIC dose activated aldehyde dehydrogenase lesser clear, than its low doses. It was stated that erythrocyte aldehyde dehydrogenase is very sensitive to exogenic nitric oxide in gaseous phase and DNIC water solutions. We fixed that modification of aldehyde dehydrogenase activity by nitric oxide is dose dependent.

Key words: aldehyde dehydrogenase, nitric oxide, blood

Целью работы являлась оценка влияния и уточнение механизмов эффектов газообразного оксида азота на каталитическую активность альдегиддегидрогеназы. В условиях *in vitro* изучали влияние свободного (концентрация NO в газовом потоке – 20, 50, 100 и 800 ppm) и депонированного оксида азота (3 mM водный раствор) на активность альдегиддегидрогеназы эритроцитов. Установлено, что при обработке образцов крови человека газообразным оксидом азота, полученным от различных генераторов, имеет место умеренное ингибирование активности изучаемого фермента в сочетании с минимальным нарастанием уровня малонового диальдегида. Применение низких доз ДНКЖ (до 0,3 мкмоль) способствует дозозависимому стимулированию каталитических свойств энзима. Повышение количества соединения уменьшает выраженность этой тенденции, хотя и сохраняет активность фермента на повышенном уровне. Альдегиддегидрогеназа эритроцитов человека чрезвычайно чувствительна к действию экзогенного NO как в газовой фазе, так и в составе ДНКЖ, причем характер модификации ее каталитических свойств непосредственно определяется количеством введенного оксида азота.

Ключевые слова: альдегиддегидрогеназа, оксид азота, кровь

Несмотря на многочисленность работ, опубликованных в последние

десятилетия относительно характера действия нитроглицерина и других органических нитратов при лечении различной сердечно-сосудистой патологии (более 15000 уже к 2008 г. [16]), связанного с высвобождением из них оксида азота [1-3], молекулярные механизмы данного эффекта раскрыты недостаточно полно. В этом плане важны данные, полученные преимущественно зарубежными исследователями для процессов биоактивации и биотрансформации нитровазодилаторов [1, 2, 4, 5]. В частности, установлено, что непосредственное участие в высвобождении молекулы монооксида азота из последних принимает альдегиддегидрогеназа (АлДГ), прежде всего – ее 2 фракция (митохондриальная) [3-6]. В то же время практически отсутствуют сведения об особенностях влияния продукта данной реакции (NO) на кинетические и каталитические свойства указанного фермента. Единичные подобные работы описывают лишь ингибирующее действие соединения на очищенный энзим [7, 8], а его «поведение» в гетерогенной биологической системе остается неизвестным. Так, исследованиями E.G. DeMaster et al. (1997) показано, что в отношении очищенной АлДГ, выделенной из *Saccharomyces cerevisiae*, газообразный NO проявляет выраженное ингибирующее действие, которое зависит от времени воздействия и концентрации физического агента [7]. В то же время присутствие в реакционной среде кислорода существенно снижает этот эффект, что указывает на непосредственную принадлежность последнего именно оксиду азота, а не нитрат- и/или нитрит-ионам, возникающим при его окислении. Авторами также продемонстрировано, что действие NO обусловлено модификацией (оксидацией) Cys-302 активного центра фермента. Это, согласно данным S. Dimmler et al. (1992), происходит в результате стимуляции оксидом азота ADP-рибозо-зависимой аутомодификации цистеина [9]. Следует отметить, что подобный эффект наблюдается и в отношении глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы, но, в отличие от АлДГ, в этом случае указанный процесс является НАД-зависимым [9, 10]. Важно, что приведенные данные получены исключительно на очищенных ферментах, тогда как для реальных биологических систем сведения отсутствуют. В связи с этим целью работы являлась оценка влияния и уточнение механизмов эффектов газообразного оксида азота и ДНКЖ на каталитическую активность АлДГ.

Материал и методы исследования

Эксперименты были проведены на образцах консервированной крови человека, полученной от здоровых доноров (возраст 20-40 лет) без хронической патологии и персистирующих инфекций. Проведено две серии экспериментов. В первой серии изучали действие газообразного оксида азота в широком диапазоне концентраций на активность АлДГ эритроцитов (n=10). Для этого кровь делили на 5 порций, первую из которых барботировали воздухом (объем – 100 мл; контрольный образец), вторую, третью и четвертую – NO-содержащим газовым потоком (концентрация NO – 20, 50 и 100 ppm соответственно; объем аналогичен контрольному), пятую – NO-содержащей холодной плазмой (концентрация NO – 800 ppm, 100 мл). NO-содержащий газовый поток создавали с помощью экспериментального генератора, разработанного в Российском федеральном ядерном центре - Всероссийском НИИ экспериментальной физики (г. Саров),

холодную плазму с оксидом азота – с использованием аппарата «Плазон».

Во второй серии экспериментов оценивали действие ДНКЖ как депонированной формы NO на кинетические и каталитические свойства эритроцитарной АлДГ. С этой целью в образцы консервированной крови (n=10) вносили 0; 0,05; 0,1 или 0,2 мл ДНКЖ-содержащего 0,9% водного раствора хлорида натрия (концентрация соединения, определенная спектрофотометрически по молекулярным экстинкциям при длинах волны 310 и 360 нм, - 3 ммоль/л). ДНКЖ синтезировали непосредственно перед проведением эксперимента по методике А.Ф. Ванина (2009) [12]. Экспозиция после воздействия в обеих сериях составляла 3 минуты.

В донорской крови спектрофотометрически определяли активность альдегиддегидрогеназы (АлДГ) – по методу Б.М. Кершенгольца, Е.В. Серкиной (1981). Содержание белка устанавливали по методу Лоури.

Результаты обрабатывали с использованием программы Statistica 6.0. Нормальность распределения значений параметров оценивали с использованием критерия Шапиро-Уилка. С учетом характера распределения признака для оценки статистической значимости различий применяли Н-критерий Краскала-Уоллеса. Данные представляли в формате $M \pm m$. Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$. Рассчитывали истинный уровень статистической значимости различий средних значений показателей.

Результаты

Проведенные эксперименты позволили установить, что различные варианты обработки крови оказывают неодинаковое влияние на активность эритроцитарной АлДГ (рис. 1).

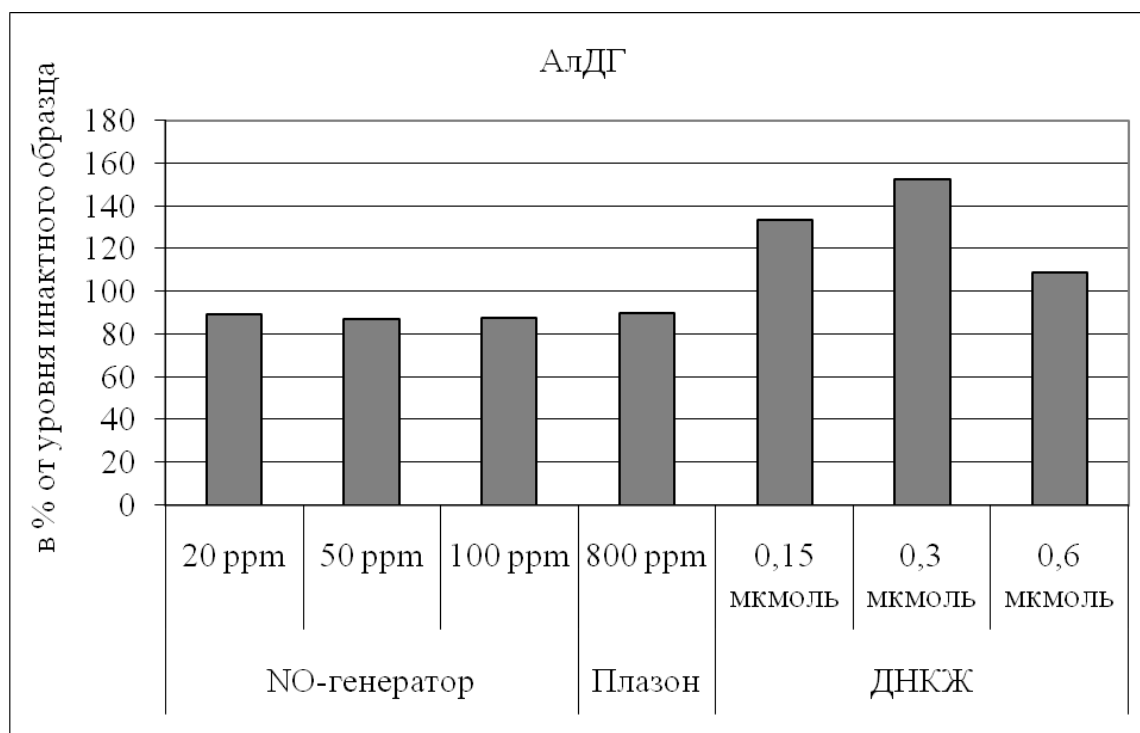


Рис. 1. Активность альдегиддегидрогеназы эритроцитов при действии свободного и депонированного оксида азота

В частности, введение в образцы биологической жидкости оксида азота в свободной газообразной форме приводит к умеренному угнетению каталитических свойств фермента (на 10-15% относительно уровня нативной крови; $p < 0,05$ для всех случаев), причем эта тенденция не зависит от дозы воздействующего агента. Интересно, что данный эффект наблюдается также и вне зависимости от особенностей генератора оксида азота. Он отмечается как в случае использования аппарата «Плазон», создающего высокие концентрации NO в сочетании с активными формами кислорода [14, 15], так и при применении экспериментального генератора, образующего NO-содержащий воздушный поток без примесей с существенно более низкими (на 1-2 порядка) концентрациями изучаемого соединения.

По нашему мнению, это обусловлено неспецифическим ингибированием каталитических свойств фермента при насыщении биологической жидкости продуктом реакции – монооксидом азота. Наличие дозозависимости ответа, не прослеживаемое при оценке общей активности АлДГ, может быть выявлено при анализе кинетических характеристик фермента. Эффекты, противоположные описанным выше, были обнаружены для депонированных форм оксида азота – динитрозильных комплексов железа, служащих естественными депо последнего (рис. 1). При воздействии на образцы крови человека растворов ДНКЖ при всех использованных концентрациях соединения наблюдали активацию АлДГ, однако степень выраженности этого влияния неодинакова (от 10 до 53% от уровня, характерного для интактного образца биологической жидкости) и нелинейно зависит от количества введенного источника оксида азота. Так, при введении 0,15-0,3 мкмоль ДНКЖ регистрировали дозозависимую стимуляцию каталитических свойств фермента, что, по нашему мнению, связано с необходимостью утилизации экзогенного субстрата. Можно предположить, что этому дополнительно способствует потенциальное сходство органических нитратов как основных субстратов фермента и экзогенных нитрозильных комплексов железа, деструкция которых в организме частично может также обеспечиваться функционированием АлДГ. Особого обсуждения, на наш взгляд, заслуживает снижение активирующего влияния ДНКЖ на каталитическую активность АлДГ при дальнейшем увеличении количества вводимого источника оксида азота. Эта тенденция может объясняться суммацией двух зависимых процессов: выраженной «компенсаторной» стимуляцией функционирования фермента при поступлении значительного количества субстрата и, следовательно, быстрым накоплением продукта реакции (NO), ингибирующего активность АлДГ по механизму обратной связи аналогично сдвигам, наблюдающимся при обработке образцов крови газообразным оксидом азота.

Обсуждение

Результаты проведенных исследований, а также критический анализ тематической литературы позволили предположить потенциальные механизмы действия оксида азота на активность АлДГ в биологической системе. В частности, согласно нашим представлениям, высокие действующие концентрации («избыток») NO могут в присутствии кислорода и активных его форм (прежде всего – супероксид-анион-радикала) образовывать пероксинитрит

(ONOO⁻), приводя к оксидации и/или нитроксилированию –SH-группы цистеина активного центра энзима. Кроме того, возможен и механизм, основанный на аллостерическом торможении каталитической активности АлДГ продуктом ее реакции – молекулой оксида азота. В то же время небольшие концентрации газообразного NO (до 100 ppm, что составляет 1,5 мМ/л крови), проявляя преимущественно антиоксидантное действие и способствуя стимуляции энергетического обмена эритроцита [19], быстро утилизируются GSNO-редуктазой (тиоредоксиновая система), каталазой, дезоксигемоглобином, цитохромом С и др. молекулами [20].

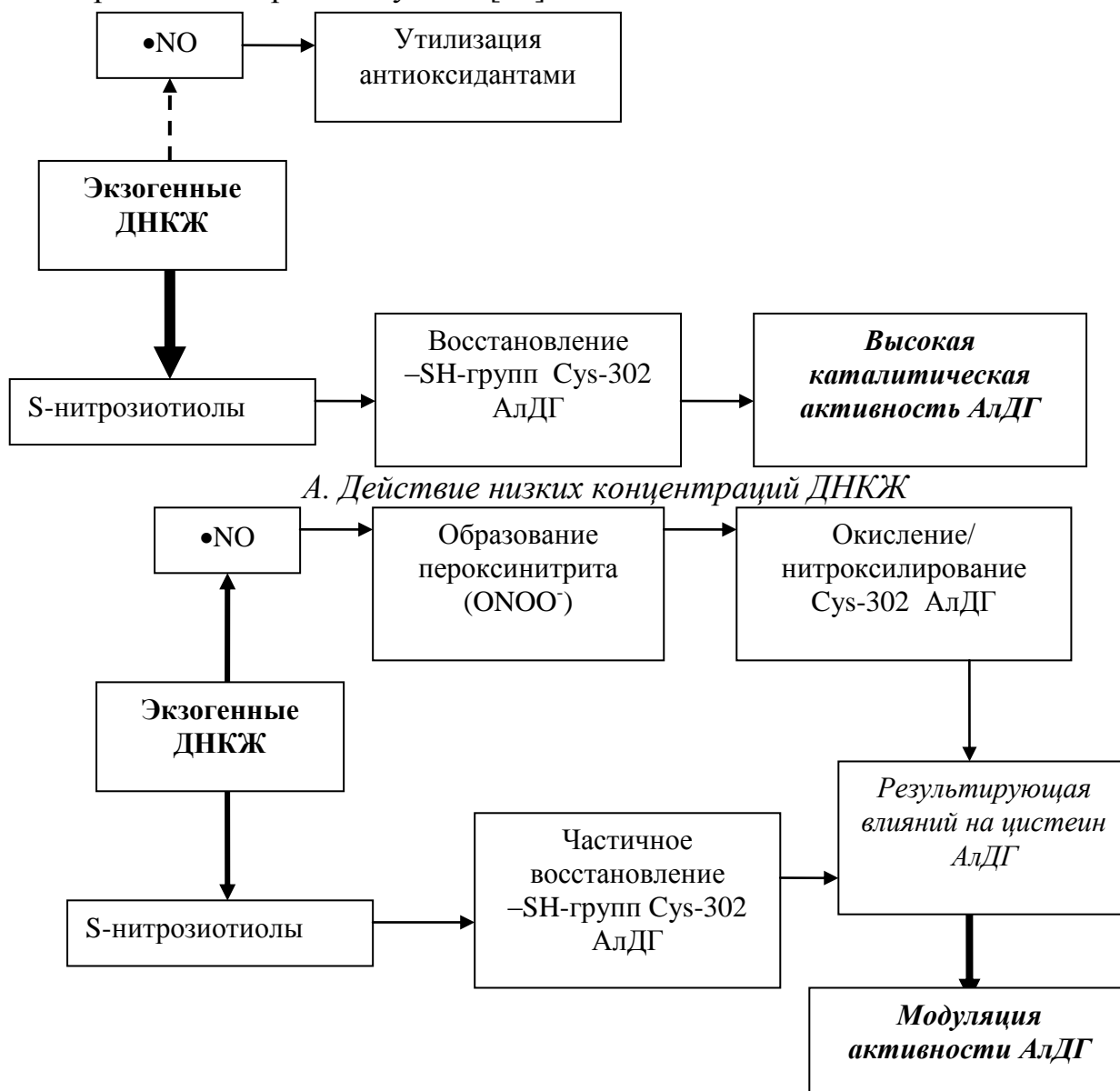


Рис. 2. Потенциальные механизмы действия экзогенных динитрозильных комплексов железа (ДНКЖ) на активность альдегиддегидрогеназы

В отношении ДНКЖ, проявивших нелинейную зависимость активности изучаемого фермента от количества вводимого соединения, нами предполагается

более сложный механизм действия. Так, небольшие количества ДНКЖ, лишь в минимальной степени спонтанно деградирующие в биосреде, сменяют лиганд с исходного носителя (глутатион) на белковые макромолекулы, включающие аминокислоты с –SH-группами, постепенно пополняя этим пул плазменных S-нитрозиотиолов, высвобождающихся при разрушении исходных ДНКЖ (рис. 2а). В свою очередь нарастание уровня данного антиоксидантного агента способствует поддержанию восстановленного состояния цистеина активного центра АлДГ, обеспечивая тем самым нарастание его каталитической активности и модификацию кинетических свойств.

При создании в биологической жидкости больших концентраций ДНКЖ имеют место, по нашему мнению, два противоположных процесса (рис. 2б). Так, значительное количество ДНКЖ, не успевая вступить во взаимодействие с белковыми молекулами плазмы (прежде всего – с альбумином), деградируют до свободного NO, который в кислородсодержащей среде моментально образует пероксинитрит с последующей окислительной инактивацией активного центра АлДГ. В то же время описанный выше процесс высвобождения S-нитрозиотиолов в этом случае также протекает, препятствуя окислительной модификации цистеина. По нашему мнению, результирующая указанных реакций и дает менее выраженную активацию каталитических свойств энзима при введении 0,6 мкмоль ДНКЖ по сравнению с 0,3 мкмоль соединения. С учетом этого мы предполагаем, что 0,3 мкмоль (1,5 мМ/л крови) – предельно возможное количество ДНКЖ, позволяющее реализовать позитивное действие соединения.

Заключение

В целом, проведенные исследования позволили получить интересные данные о том, что «пороговые» концентрации для свободного (газообразного) и депонированного в составе ДНКЖ оксида азота одинаковы и составляют 1,5 мМ/л крови, однако пороговый диапазон более широк для последних. Об этом косвенно свидетельствует то обстоятельство, что даже двухкратное превышение пороговой дозы агента вызывает лишь снижение выраженности его позитивного эффекта. Природу и молекулярные механизмы единого биологического «порога» для изученных форм NO еще предстоит установить, т. к. она, по нашему мнению, имеет непосредственное отношение к метаболической адаптации биологических систем, в т.ч. крови, к одному из основных химических биорегуляторов функционирования организма – оксиду азота и проблеме возникновения и преодоления толерантности к нитровазодилаторам.

Список литературы

1. Chen Z., Foster M.W., Zhang J., Mao L., Rockman H.A., Kawamoto T. et al. An essential role for mitochondrial aldehyde dehydrogenase in nitroglycerin bioactivation // PNAS. 2005. Vol. 102, N 34. P. 12159-12164.
2. Fung H.L. Biochemical mechanism of nitroglycerin action and tolerance: is this old mystery solved? // Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 2004. Vol. 44. P. 67-85.
3. Mayer B., Beretta M. The enigma of nitroglycerin bioactivation and nitrate tolerance: news, views and troubles // British Journal of Pharmacology. 2008. Vol. 155. P. 170-184.

4. Lang B.S., Gorren A.C., Oberdorfer G., Wenzl M.V., Furdui C.M., Poole L.B. et al. Vascular bioactivation of nitroglycerin by aldehyde dehydrogenase-2: reaction intermediates revealed by crystallography and mass spectrometry // *J. Biol. Chem.* 2012. Vol. 287, N45. P. 38124-38134.

5. Wenzl V.M., Beretta M., Griesberger M., Russwurm M., Koesling D., Schmidt K. et al. Site-directed mutagenesis of aldehyde dehydrogenase-2 suggests three distinct pathways of nitroglycerin biotransformation // *Molec. Pharm.* 2011. Vol. 80, N 2. P. 258-266.

6. de la Lande I.S., Stepien J.M., Philpott A.C., Hughes P.A., Stafford I., Horowitz J.D. Aldehyde dehydrogenase, nitric oxide synthase and superoxide in ex vivo nitrate tolerance in rat aorta // *Eur J. Pharmacol.* 2004. Vol. 496, N 1-3. P. 141-149.

7. DeMaster E.G., Redfern B. Quast B.J., Dahlseid T., Nagasawa H.T. Mechanism for the inhibition of aldehyde dehydrogenase by nitric oxide // *Alcohol.* 1997. Vol. 14, N 2. P. 181-189.

8. Szabó C., Southan G.J., Thiemermann C., Vane J.R. The mechanism of the inhibitory effect of polyamines on the induction of nitric oxide synthase: role of aldehyde metabolites // *Br. J. Pharmacol.* 1994. Vol. 113, N 3. P. 757-766.

9. Dimmeler S., Lottspeich F., Brune B. Nitric oxide causes ADP-ribosylation and inhibition of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase // *J. Biol. Chem.* 1992. Vol. 267. P. 16771-16774.

10. McDonald L.J., Moss J. Pleiotropic effects of nitric oxide on ADP-ribosylation, covalent binding of NAD, and catalytic activity of glyceraldehyde-3-phosphate and aldehyde dehydrogenases // *Trans. Assoc. Am. Physicians.* 1993. Vol. 106. P. 155-161.

11. Ванин А.Ф. Оксид азота в биомедицинских исследованиях // *Вестник РАМН.* 2000. №4. С. 3-5.

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

13. Мартусевич А.К., Соловьева А.Г., Перетягин С.П. Влияние свободного и депонированного оксида азота на энергетический метаболизм крови // *Современные технологии в медицине.* 2013. Т. 5, №4. С. 33-38.

14. Мартусевич А.К., Соловьева А.Г., Перетягин С.П., Диденко Н.В. Анализ влияния оксида азота на физико-химические параметры крови *in vitro* // *Врач-аспирант.* 2013. №2. С. 218-222.

15. Martusevich A.K., Peretyagin S.P., Soloveva A.G., Vanin A.F. Estimation of some molecular effects of gaseous nitrogen oxide on human blood *in vitro* // *Biophysics.* 2013. Vol. 58, №5. P. 689-692.

16. Голиков П.П., Николаева Н.Ю., Гавриленко И.А. Оксид азота и перекисное окисление липидов как фактор эндогенной интоксикации при неотложных состояниях // *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2000. №2. С. 6-9.

17. Koppaka V., Thompson D.C., Chen Y., Ellermann M., Nicolaou K.C.,

Juvonen R.O. et al. Aldehyde dehydrogenase inhibitors: a comprehensive review of the pharmacology, mechanism of action, substrate specificity, and clinical application // *Pharmacol. Rev.* 2012. Vol. 64, N 3. P. 520-539.

18. Tsou P.-S., Page N.A., Lee S.G., Fung S.M., Keung W.M., Fung H.L. Differential metabolism of organic nitrates by aldehyde dehydrogenase 1a1 and 2: substrate selectivity, enzyme inactivation, and active cysteine sites // *The AAPS Journal.* 2011. Vol. 13, N 4. P. 548-555.

19. Мартусевич А.К., Соловьева А.Г., Перетягин С.П., Митрофанов В.Н. Оценка влияния некоторых физических факторов на энергетический метаболизм крови *in vitro* // *Биомедицина.* 2013. №1. С. 103-108.

20. Godoy L., Gonzalez-Duarte R., Albalat R. S-Nitrosogluthathione reductase activity of amphioxus ADH3: insights into the nitric oxide metabolism // *Int. J. Biol. Sci.* 2006. Vol. 2, N 3. P. 117-124.

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ГАЗОВОГО ПОТОКА, СОДЕРЖАЩЕГО АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА И ОКСИД АЗОТА, НА УРОВЕНЬ НИТРОТИРОЗИНА ПЛАЗМЫ

А.Г. Соловьева, А.К. Мартусевич, Н.В. Диденко

ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет»

Минздрава России

Abstract

The aim of this work is estimation of nitrosative stress laboratory marker (nitrotyrosine) at blood processing by gas flow with nitric oxide. We used samples of whole blood of 14 healthy people. They were divided in 3 parts (at 5 ml.). First portion of blood was processed by 100 ml. of NO-contained cold plasma (by «Plazon» apparatus), second portion was treated by 100 ml. of cold plasma, diluted by atmospheric air (1 : 9), third one was control. Nitrotyrosine level was tested with ELISA kit («Hycult Biotech»). It was stated, that blood processing by NO-contained cold plasma leads to nitrosative stress signs only at high NO concentration (800 mcg/l) use.

Key words: nitric oxide, blood plasma, nitrotyrosine, nitrosative stress

Целью исследования служила оценка уровня лабораторных признаков нитрозативного стресса при обработке крови газовым потоком, содержащим NO. Объектом исследования явились образцы цельной консервированной крови здоровых доноров (n=14), разделенные на 3 порции (по 5 мл). Первую порцию обрабатывали NO-содержащей холодной плазмой (аппарат «Плазон»; 100 мл) путем барботаж в пробирке, вторую пробу барботировали 100 мл потока холодной плазмы, предварительно разведенного воздухом (1:9). Уровень нитротирозина сыворотки крови определяли с применением тест-системы ELISA («Hycult Biotech»). Установлено, что обработка крови NO способствует развитию в крови явлений нитрозативного стресса лишь при использовании высоких концентраций агента (800 мкг/л).

Ключевые слова: оксид азота, плазма крови, нитротирозин, нитрозативный стресс

Исследованиями последних десятилетий было показано, что монооксид азота (NO) играет многогранную роль в биологических системах, оказывая как позитивное, биорегуляторное влияние, так и обладая способностью к повреждению клеток и тканей организма [1-4]. Биорегуляторное действие NO преимущественно связано с вазотропными эффектами соединения, с учетом чего данное вещество предлагается на роль «endothelium-relaxating factor» [1, 2, 4]. Негативные эффекты NO в том числе обусловлены образованием

пероксинитрита, и, в определенных условиях, совокупности кислородсодержащих кислот азота [2, 3].

Следует отметить, что большинство эффектов NO показано на уровне организма или ткани, тогда как действие соединения на жидкие биосистемы изучено лишь фрагментарно [1, 4]. Известно, что одним из общих путей реализации негативного действия NO (как при синтезе пероксинитрита, так и образовании нитритно-нитратной смеси) является развитие нитрозативного стресса [4]. Учитывая то обстоятельство, что побочным продуктом нитроксилирования биосубстратов выступает процесс нитрозилирования белков, количественной мерой выраженности указанного вида биорадикального стресса может выступать содержание нитротирозина [5, 6]. Поэтому целью данного исследования служила оценка уровня лабораторных признаков нитрозативного стресса при обработке крови газовым потоком, содержащим NO.

Материалы и методы

Объектом исследования явились образцы цельной консервированной крови здоровых доноров (n=14). Каждый образец был разделен на три порции (по 5 мл). Первую порцию обрабатывали NO-содержащей холодной плазмой (100 мл) путем барботажа в пробирке, вторую пробу барботировали 100 мл газовой смеси, в которой поток NO-содержащей плазмы был предварительно разведен атмосферным воздухом (1 : 9).

Генерацию холодной плазмы производили с помощью аппарата «Плазон», использовали среднюю мощность прибора. В выбранных условиях концентрация NO в газовом потоке составила 800 мкг/л. Продолжительность барботажа – 2 минуты.

Уровень нитротирозина сыворотки крови определяли с применением тест-системы ELISA («Hycult Biotech») [5, 6].

Результаты обрабатывали с использованием Statistica 6.0.

Результаты и их обсуждение

Проведенные исследования позволяют заключить, что нитроксилирование крови оказывает влияние на уровень рассматриваемого параметра (рис. 1).

При этом имеет место дозозависимый эффект NO на жидкую биосистему. Так, при обработке биожидкости содержащим оксид азота газовым потоком, поступающим из манипулятора генератора, концентрация нитротирозина в сыворотке крови существенно возрастает (на 95,2% относительно контроля; $p < 0,05$), а при 10-кратном разбавлении уровень соединения нарастает лишь незначительно.

На основании этих данных можно предположить, что высокие концентрации газообразного NO (800 мкг/л) способны оказывать негативное нитрозилирующее действие на белки и аминокислоты плазмы крови, создавая предпосылки для развития нитрозативного стресса. В то же время снижение концентрации изучаемого агента при разведении атмосферным воздухом, происходящее как за счет разбавления, так и вследствие протекания реакции соединения с компонентами воздуха, прежде всего, с кислородом с образованием смеси оксидов азота с более высокой степенью окисления.

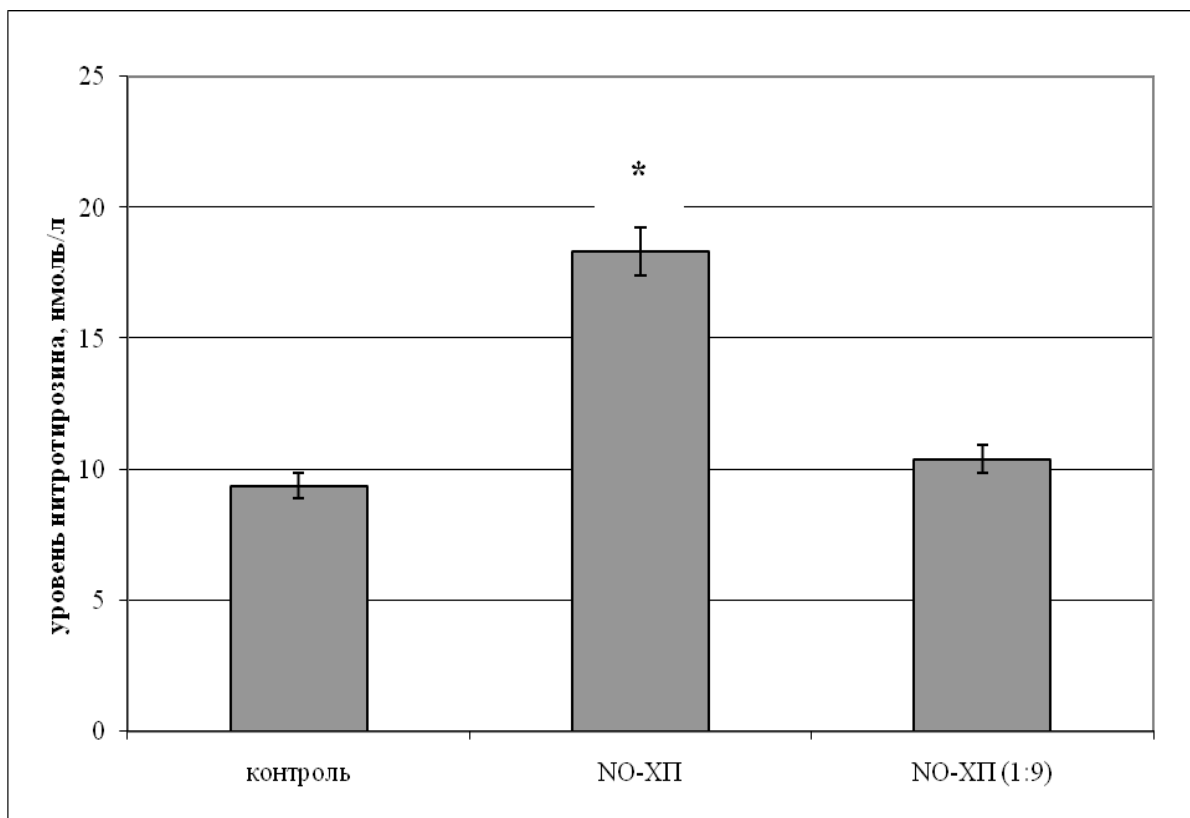


Рис. 1. Уровень нитротирозина сыворотки крови при ее обработке оксидом азота (* - значимость различий с контрольным образцом $p < 0,05$; NO-XII – поток, содержащий монооксид азота и активные формы кислорода; NO-XII (1:9) – аналогичный газовый поток, разведенный десятикратно атмосферным воздухом)

Это приводит к частичной «компенсации» негативного эффекта исходно высокой концентрации NO в отношении тирозин-содержащих аминокислот и белков плазмы крови. Следовательно, снижение действующей концентрации данного агента предотвращает реализацию нитрозативного стресса.

Заключение

Установлено, что обработка крови монооксидом азота способствует развитию в крови явлений нитрозативного стресса лишь при использовании высоких концентраций агента (800 мкг/л). При этом десятикратное разведение исходного газового потока воздухом не вызывает столь значимых сдвигов, что свидетельствует о физиологической избыточности непосредственно генерируемой прибором концентрации оксида азота для биосистемы (крови человека).

Список литературы

1. Ванин А.Ф. Оксид азота в биомедицинских исследованиях // Вестник Российской Академии медицинских наук. 2000. №4. С. 3-5.
2. Граник В.Г., Григорьев Н.Б. Оксид азота (NO). Новый путь к поиску лекарств. М.: Вузовская книга. 2004. 360 с.
3. Hall C.N., Garthwaite J. What is the real physiological NO concentration in vivo? // Nitric Oxide Biol. Chem. 2009. Vol. 12, Iss. 2. P. 92-103.

4. Nitric Oxide. Basic Research and Clinical Application / Ed. R.J. Gryglewsky, P. Minuz. Amsterdam; Berlin; Oxford; Tokyo; Washington: IOS Press. 2001.

5. ter Steege J. et al. Nitrotyrosine in plasma of celiac disease patients as detected by a new sandwich ELISA // Free Rad. Biol. Med. 1998. Vol. 25. P. 953.

6. Whiteman M. et al. Lack of tyrosine nitration by hypochlorous acid in the presence of physiological concentrations of nitrite. Implication for the role of nitryl chloride in tyrosine nitration in vivo // J. Biol. Chem. 2003. Vol. 278. P. 8380.

Правила оформления статей

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

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

Тематика публикаций:

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

Разделы журнала:

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

Технические правила по оформлению рукописей:

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

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

Первая страница рукописи должна содержать:

- 1) название статьи;
- 2) инициалы и фамилию автора (-ов);

3) полное название учреждения, в котором выполнена работа, город, страну. Фамилии иностранных авторов следует писать в оригинальной транскрипции.

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

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

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

- краткое введение с указанием цели данного исследования;
- раздел «Материалы и методы» должен содержать сведения о методах исследования, достаточные для их воспроизведения, однако не следует подробно описывать известные методы, опубликованные ранее. В этом случае достаточно дать ссылку на соответствующий источник литературы. Однако модификации известных методик, разработанные автором (-ами), нужно описать подробно;
- раздел «Результаты и обсуждение» должен быть написан логично с представлением статистической обработки результатов данного исследования;
- выводы и/или заключение, резюмирующие результаты исследования;
- список литературы в алфавитном порядке;
- резюме на русском и английском языках (до 0,5 стр.) с указанием названия статьи, фамилий всех авторов, ключевые слова (не более 10) на русском и английском языках.

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

Все математические формулы должны быть тщательно выверены.

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

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

Образцы оформления литературы

Статья в журнале

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

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

Книга

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

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

Глава в книге, статья в сборнике

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

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

Редакторы, составители в качестве авторов

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

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

Доклад на конференции

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

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

Диссертация

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

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

Патент, авторское свидетельство

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

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

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

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

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

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

Редакция оставляет за собой право сокращать и редактировать присланные статьи. Корректуры автору (-ам) не высылаются, вся работа с ними проводится по авторскому оригиналу. Редакция имеет право направить статью экспертам в области, обсуждаемой в статье темы, для независимой (анонимной) научной экспертизы (рецензирования).

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

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

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

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

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

Guidelines for Authors

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

Editor-in-Chief – Prof. Sergey P. Peretyagin (*psp_aro@mail.ru*)

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

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

MAIN TOPICS:

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

JOURNAL SECTIONS:

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

MANUSCRIPT PREPARATION

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

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.