

УДК [612.223.12: 612.127.2]-092.4

DOI: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-70-76

В. В. ЗИНЧУК, Е. С. БИЛЕЦКАЯ

Особенности влияния озона на кислородзависимые процессы крови при гипоксических условиях

Учреждение образования «Гродненский государственный медицинский университет», г. Гродно, Республика Беларусь
230009, Республика Беларусь, г. Гродно, ул. Горького, д. 80
E-mail: zinchuk@grsmu.by

Статья поступила в редакцию 15.02.21 г.; принята к печати 16.07.21 г.

Резюме

Введение. Озон является физиологическим фактором, который способен изменять сродство гемоглобина к кислороду и образование газотрансмиттеров (NO, H₂S). **Цель** – изучение эффектов озона на кислородзависимые процессы крови в гипоксических условиях в опытах *in vitro* при введении доноров газотрансмиттеров. **Материалы и методы.** Образцы крови разделяли на 6 групп по 3 мл. Группы 2, 4, 5, 6 подвергались предварительной обработке дезоксигенирующей газовой смесью (5,5 % CO₂; 94,5 % N₂). В 3, 4, 5, 6 группы добавляли озонированный изотонический раствор хлорида натрия (с концентрацией озона 6 мг/л), а в группы 5 и 6 дополнительно вводили доноры газотрансмиттеров – нитроглицерин и гидросульфид натрия соответственно. **Результаты.** Предварительная дезоксигенация ослабляет влияние озона на кислородтранспортную функцию крови. Нитроглицерин препятствует проявлению данного эффекта. Действие озона в гипоксических условиях приводит к росту содержания NO₃⁻/NO₂⁻ и H₂S, а добавление нитроглицерина и гидросульфида натрия увеличивают эти показатели. Дезоксигенация под влиянием озона приводит к уменьшению показателей перекисного окисления липидов (малоновый диальдегид, диеновые конъюгаты), а также снижению ретинола и α-токоферола, в том числе в группе с нитроглицерином. **Заключение.** В гипоксических условиях наблюдается уменьшение эффекта озона на кислородзависимые процессы. Нитроглицерин снижает его проявление, а гидросульфид натрия подобного действия не оказывает.

Ключевые слова: озон, эритроциты, микроциркуляция, газотрансмиттер, монооксид азота, сероводород, гипоксия

Для цитирования: Зинчук В. В., Билецкая Е. С. Особенности влияния озона на кислородзависимые процессы крови при гипоксических условиях. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2021;20(3):70–76. Doi: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-70-76.

UDC [612.223.12: 612.127.2]-092.4

DOI: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-70-76

V. V. ZINCHUK, E. S. BILETSKAYA

Features of ozone effect on oxygen-dependent processes in the blood under hypoxic conditions

Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus
80, street Gorky, Grodno, Republic of Belarus, 230009
E-mail: zinchuk@grsmu.by

Received 15.02.21; accepted 16.07.21

Summary

Introduction. Ozone is a physiological factor that can change hemoglobin oxygen affinity and the formation of gaseous transmitters (NO, H₂S). **The aim** is to study the effect of ozone with gaseous transmitters donors on oxygen-dependent processes in the blood under hypoxic conditions *in vitro*. **Materials and methods.** Blood samples were divided into 6 groups of 3 ml each. Groups 2, 4, 5, 6 were pretreated with a deoxygenating gas mixture (5.5 % CO₂; 94.5 % N₂). In groups 3, 4, 5, 6, ozonized isotonic sodium chloride solution (with an ozone concentration of 6 mg/l) was added, and in groups 5 and 6, the donors of gas transmitters nitroglycerin and sodium hydrosulfide, respectively, were additionally introduced. **Results.** Pre-deoxygenation reduces the effect of ozone on oxygen transport in the blood. Nitroglycerin prevents this effect. The action of ozone under hypoxic conditions leads to an increase of content of NO₃⁻/NO₂⁻ and H₂S, and combination with nitroglycerin and sodium hydrosulfide increase these parameters. Deoxygenation due to ozone reduces parameters of lipid peroxidation (malonic dialdehyde, diene conjugates), retinol and α-tocopherol, and the same result in the nitroglycerin group. **Conclusion.** Under hypoxic conditions, a decrease in the effect of ozone on oxygen-dependent processes is reported. Nitroglycerin reduces its manifestation, while sodium hydrosulfide does not have a similar effect.

Keywords: ozone, erythrocytes, microcirculation, gaseous transmitters, nitrogen monoxide, hydrogen sulfide, hypoxia

For citation: Zinchuk V. V., Biletskaya E. S. Features of ozone effect on oxygen-dependent processes in the blood under hypoxic conditions. Regional hemodynamics and microcirculation. 2021;20(3):70–76. Doi: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-70-76.

Введение

Важным аспектом исследования микрогемоциркуляции является понимание того, как характеристики крови и микрореологическое поведение ее клеточных элементов обеспечивают транскапиллярный обмен и поступление кислорода (O_2) в ткани [1]. Изучение закономерностей изменений содержания O_2 в комплексе с параметрами микрогемодинамики представляется перспективным и необходимым для разработки патогенетически обоснованных индивидуализированных протоколов коррекции пациентов с гипоксическим синдромом [2]. Эритроциты, являясь переносчиками O_2 в организме, также участвуют в регуляции сосудистого тонуса в системе микроциркуляции, выступая в качестве сенсора для регуляции микрососудистого компонента [1], в то же время газотрансмиттеры эндотелиального происхождения оказывают влияние на кислородтранспортную функцию (КТФ) крови [3]. Одним из основных факторов на микроциркуляторном русле, влияющим на насыщение тканей кислородом, является изменение сродства к нему гемоглобина [4].

В последние годы озон (O_3) активно используется для улучшения процессов микроциркуляции ишемизированных тканей. Озонотерапия аутологичной крови широко применяется для лечения пациентов с нарушением периферического кровообращения [5]. Данный эффект O_3 может быть связан, как ранее нами было показано, с тем, что происходит изменение КТФ крови, проявляющееся в увеличении pO_2 , SO_2 и уменьшении сродства гемоглобина к кислороду (СГК), выраженность которых усиливается с повышением концентрации озона и сопровождается ростом нитрат/нитритов, сероводорода в плазме [1]. Кроме того, озон оказывает влияние на прооксидантно-антиоксидантный баланс, что проявляется в увеличении содержания диеновых конъюгатов (ДК), малонового диальдегида (МДА) в эритроцитарной массе, ретинола, α -токоферола, активности каталазы [7–9].

Озон также может индуцировать продукцию монооксида азота (NO) и улучшать реологические свойства крови [10]. NO-генерирующая система участвует в эффекте O_3 на КТФ крови [11]. В связи с этим особый интерес вызывает изучение эффектов озона при различных кислородных режимах и участии системы газотрансмиттеров (NO, H_2S).

Цель исследования – изучение эффектов озона на кислородзависимые процессы крови в гипоксических условиях в опытах *in vitro* при введении доноров газотрансмиттеров.

Материалы и методы исследования

На образцах крови, забранных от белых беспородных крыс-самцов массой 250–300 г, предварительно содержавшихся в стандартных условиях вивария, проводили эксперименты *in vitro*. Забор смешанной венозной крови осуществляли, используя адекватный наркоз (50 мг/кг тиопентала натрия интраперитонеально), из правого предсердия в предварительно подготовленный шприц с гепарином, из расчета 50 ЕД на 1 мл крови. Исследование проводилось в соответствии рекомендациями Комитета по биомедицинской этике и деонтологии учреждения образования «Гродненский

Схема эксперимента в условиях дезоксигенации (5,5 % CO_2 ; 94,5 % N_2)



Рис. 1. Схема эксперимента

Fig. 1. Design of the experiment

государственный медицинский университет», протокол № 1 от 14 января 2019 г.

Образцы крови ($n=10$) разделяли на 6 групп по 3 мл (рис. 1). Применялась концентрация озона 6 мг/л. Изотонический раствор барбатировали озono-кислородной смесью при помощи озонотерапевтической установки УОТА-60-01-Медозон (Россия), в которой предусмотрено измерение концентрации озона оптическим методом в ультрафиолетовом диапазоне.

В первую контрольную группу добавляли 1,1 мл изотонического раствора хлорида натрия.

Кровь 2-й группы обрабатывали дезоксигенирующей газовой смесью (5,5 % CO_2 ; 94,5 % N_2) в термостатируемом сатураторе на протяжении 30 мин и добавляли 1,1 мл изотонического раствора хлорида натрия.

В кровь 3-й группы добавляли озонированный изотонический раствор хлорида натрия в объеме 1 мл и 0,1 мл изотонического раствора хлорида натрия.

Кровь 4-й группы дезоксигенировали и добавляли озонированный изотонический раствор хлорида натрия в объеме 1 мл и 0,1 мл изотонического раствора хлорида натрия.

Производили обработку дезоксигенирующей газовой смесью крови 5-й группы и добавляли озонированный изотонический раствор хлорида натрия в объеме 1 мл и 0,1 мл раствора, содержащего нитроглицерин в конечной концентрации 0,05 ммоль/л (SchwarzPharma AG).

Кровь 6-й группы также подвергали дезоксигенации и добавляли озонированный изотонический раствор хлорида натрия в объеме 1 мл и 0,1 мл раствора, содержащего гидросульфид натрия в конечной концентрации 0,38 ммоль/л (Sigma-Aldrich).

Каждую пробу перемешивали и инкубировали на протяжении 60 мин.

На газоанализаторе Stat Profile pHox plus L (США) при 37 °C в крови определяли следующие показатели КТФ: парциальное давление кислорода (pO_2), степень оксигенации (SO_2) и кислотно-основного состояния – парциальное давление углекислого газа (pCO_2), стандартный бикарбонат (SBC), реальный/стандартный недостаток (избыток) буферных оснований (ABE/SBE), гидрокарбонат (HCO_3^-), концентрацию

Эффект озона на кислородтранспортную функцию крови при добавлении доноров газотрансмиттеров в гипоксических условиях (Me [25; 75])

Table 1

Effect of ozone and its combination with gaseous transmitters donors on oxygen transport in the blood under hypoxic conditions (Me [25; 75])

Показатель	Контроль	Дезоксигенация	Озон	Дезоксигенация + озон	Дезоксигенация + нитроглицерин + озон	Дезоксигенация + NaHS + озон
n	10	10	10	10	10	10
SO ₂ , %	31,4 [25,3; 31,7]	18,10 [15,20; 23,10]*	33,30 [33,10; 36,30]*#	28,00 [24,10; 32,40]*#Ψ	33,85 [32,80; 36,10]*#Ψ\$	23,50 [18,4; 28,00]*ΨΩ
pO ₂ , мм рт. ст.	20,5 [18,8; 20,7]	14,85 [14,30; 15,00]*	24,90 [23,70; 26,60]*#	21,00 [18,80; 23,20]*#Ψ	24,35 [20,90; 33,90]*#Ψ\$	20,75 [16,40; 22,10]*ΨΩ
pH, ед.	7,417 [7,411; 7,418]	7,286 [7,261; 7,304]*	7,431 [7,417; 7,470]*#	7,285 [7,264; 7,302]*#Ψ	7,287 [7,268; 7,323]*#Ψ\$	7,277 [7,237; 7,287]*#ΨΩ
pCO ₂ , мм рт. ст.	34,2 [31,7; 36,8]	57 [54,60; 59,10]*	28,45 [25,30; 34,20]*#	54,35 [51,00; 58,90]*#Ψ	51,80 [50,40; 53,70]*#Ψ\$	54,20 [49,60; 56,40]*#ΨΩ
HCO ₃ ⁻ , ммоль/л	21,6 [20; 22,3]	28,20 [26,50; 29,60]*	20,55 [20,30; 21,50]*#	26,35 [25,70; 26,70]*#Ψ\$	25,25 [23,30; 26,50]*#Ψ\$	27,05 [26,60; 28,60]*#ΨΩ
TCO ₂ , ммоль/л	21,9 [21; 23,4]	30,05 [28,10; 31,40]*	20,8 [20,60; 22,40]*#	28,00 [27,40; 28,30]*#Ψ\$	26,85 [24,90; 28,40]*#Ψ\$	28,45 [27,90; 29,90]*#ΨΩ
ABE, ммоль/л	-3,2 [-3,8; -2,3]	0,10 [-0,20; 0,80]*	-4 [-4,70; -3,60]*#	-0,60 [-1,20; 0,30]*#Ψ\$	-1,55 [-3,80; -1,00]*#Ψ\$	0,20 [-0,10; 0,80]*#ΨΩ
SBE, ммоль/л	-1,8 [-2,4; -1,2]	0,65 [0,30; 1,00]*	-3,05 [-3,60; -2,30]*#	-0,20 [-0,70; 0,50]*#Ψ\$	-1,20 [-3,00; -0,90]*#Ψ\$	0,60 [0,20; 1,30]*#ΨΩ
SBC, ммоль/л	21,7 [21,2; 22,1]	24,55 [24,00; 26,00]*	21,60 [21,20; 22,20]*#	23,40 [22,90; 24,20]*#Ψ\$	22,10 [20,90; 22,40]*#Ψ\$	23,80 [23,30; 24,40]*#ΨΩ
p50 _{реал} , мм рт. ст.	26,8 [25,5; 27,9]	22,16 [19,52; 24,29]*	30,95 [26,74; 38,60]*#	26,44 [25,27; 27,58]*#Ψ\$	31,45 [30,62; 38,97]*#Ψ\$	25,14 [24,53; 30,08]*#ΨΩ
p50 _{станд} , мм рт. ст.	26,5 [25,4; 27,7]	21,60 [21,00; 23,80]*	31,45 [26,70; 36,60]*#	24,50 [24,00; 26,10]*#Ψ\$	27,10 [26,90; 35,30]*#Ψ\$	23,10 [22,10; 23,60]*#ΨΩ

Примечание: здесь и далее изменения в сравнении с группами: * – контрольной; # – дезоксигенация; Ψ – озон; \$ – дезоксигенация + озон; Ω – дезоксигенация + нитроглицерин + озон.

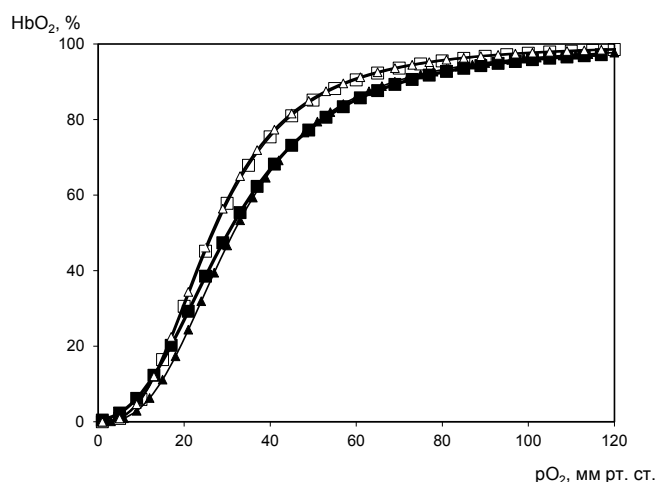


Рис. 2. Эффект озона на положение кривой диссоциации оксигемоглобина при реальных значениях pH и pCO₂ в гипоксических условиях: □ – контроль; ■ – озон; Δ – дезоксигенация + озон; ▲ – дезоксигенация + нитроглицерин + озон

Fig. 2. Effect of ozone on the oxyhemoglobin dissociation curve at real pH and pCO₂ values under hypoxic conditions: □ – control; ■ – ozone; Δ – deoxygenation + ozone; ▲ – deoxygenation + nitroglycerin + ozone

водородных ионов (pH), общую углекислоту плазмы крови (TCO₂). Сродство гемоглобина к кислороду оценивали спектрофотометрическим методом по показателю p50_{реал} (pO₂ крови при 50 %-м насыщении

ее кислородом). По формулам Severinghaus [12] рассчитывали значение p50_{станд} и положение кривой диссоциации оксигемоглобина (КДО).

Активность свободнорадикальных процессов оценивали по содержанию первичных (ДК) и промежуточных (МДА) продуктов перекисного окисления липидов. Уровень ДК в эритроцитарной массе определяли по интенсивности поглощения липидным экстрактом монохроматического светового потока в области спектра 232–234 нм, характерного для конъюгированных диеновых структур гидроперекисей липидов [16]. Оптическую плотность измеряли на спектрофлуориметре CM 2203 «Солар» (Беларусь) при длине волны 233 нм по отношению к контролю. Концентрацию ДК выражали в виде ЕД/мл. Содержание МДА (ТБК-реагирующих продуктов) оценивали по взаимодействию с ТБК, которая при высокой температуре в кислой среде приводит к образованию триметинового комплекса розового цвета [17]. Интенсивность окраски измеряли спектрофотометрически на спектрофотометре PV1251C «Солар» (Беларусь) при длине волны 540 нм, по отношению к контролю. Концентрацию МДА выражали в мкмоль/л.

Активность каталазы оценивали по способности пероксида водорода образовывать с солями молибдена стойко окрашенный комплекс при длине волны 410 нм на спектрофотометре PV1251C «Солар»

Эффект озона на показатели прооксидантно-антиоксидантного баланса крови при добавлении доноров газотрансмиттеров в гипоксических условиях (Me [25; 75])

Table 2

Effect of ozone with gaseous transmitters donors on parameters of the prooxidant-antioxidant balance of the blood under hypoxic conditions (Me [25; 75])

Показатель	Контроль	Дезоксигена-ция	Озон	Дезоксигена-ция + озон	Дезоксигенация + нитроглицерин + озон	Дезоксигенация + NaHS + озон
n	10	10	10	10	10	10
МДАэр, мкмоль/л	4,86 [4,25; 5,77]	5,52 [5,39; 5,84]	16,63 [16,04; 17,10]*#	13,36 [11,00; 13,58]*#Ψ	12,75 [12,31; 13,05]*#Ψ	13,59 [10,78; 14,99]*#
ДКэр, ЕД/мл	18,15 [17,34; 18,56]	18,20 [16,99; 21,39]	22,85 [20,20; 26,82]*	18,82 [18,22; 19,63]Ψ	17,39 [15,48; 21,12]Ψ	18,86 [15,84; 22,24]
Каталаза, ммоль H ₂ O ₂ /мин/г Нб	10,56 [10,25; 10,87]	11,18 [10,71; 16,35]	13,98 [13,24; 14,21]*	14,87 [13,85; 16,08]*	15,73 [14,13; 16,57]*Ψ	15,50 [14,48; 17,21]*Ψ
Ретинол, мкмоль/л	0,84 [0,81; 0,87]	0,89 [0,86; 0,91]	1,06 [0,95; 1,12]*#	0,83 [0,76; 0,93]Ψ	0,87 [0,77; 0,94]	0,85 [0,74; 0,97]
α-токоферол, мкмоль/л	8,34 [7,95; 8,65]	8,85 [8,17; 10,05]	14,83 [12,72; 17,34]*#	10,72 [10,27; 12,62]*#Ψ	10,76 [10,55; 13,75]*#Ψ	10,94 [10,27; 12,06]*#Ψ

(Беларусь) [17]. Концентрацию α-токоферола и ретинола определяли по методу S. L. Taylor [18], основанному на определении интенсивности флуоресценции гексанового экстракта при длине волны возбуждения 286 нм и испускания 350 нм (для α-токоферола) и при длине волны возбуждения 325 нм и испускания 470 нм (для ретинола) на спектрофлуориметре СМ 2203 «Солар» (Беларусь). В контрольную пробу вместо исследуемого материала вносили аликвоту бидистиллированной воды, а в стандартную – рабочего раствора, приготовленного из стандартов α-токоферола и ретинола (*Sigma*). Концентрацию α-токоферола и ретинола выражали в мкмоль/л.

Продукцию эндогенного NO оценивали по суммарному содержанию нитрат/нитритов (NO₃⁻/NO₂⁻) в плазме крови спектрофотометрическим методом с реактивом Грисса при длине волны 540 нм [19]. Уровень эндогенного сероводорода (H₂S) в плазме крови определяли спектрофотометрическим методом, основанном на реакции между сульфид-анионом и раствором N,N-диметил-парафенилендиамина солянокислого в присутствии хлорного железа при длине волны 670 нм [20]. Концентрацию газотрансмиттеров рассчитывали по калибровочным графикам и результаты выражали в мкмоль/л.

Все показатели проверяли на соответствие признака закону нормального распределения с использованием критерия Шапиро – Уилка. С учетом этого была использована непараметрическая статистика с применением программы «Statistica 10.0». Сравнение трех и более независимых групп проводили с помощью рангового дисперсионного анализа Крускала – Уоллиса. Достоверность полученных данных, с учетом размеров малой выборки, множественных сравнений, оценивали с использованием U-критерия Манна – Уитни. При проведении парных сравнений уровней показателей внутри групп при повторных измерениях использовали критерий Вилкоксона. Результаты представлены как медиана (Me), 25-й и 75-й квартильный размах. Уровень статистической значимости принимали за p<0,05.

Результаты исследования и их обсуждение

Характер изменения показателей КТФ крови в условиях влияния озона и обработки дезоксигенирующей газовой смесью приведены в табл. 1.

Действие озона приводит к росту основных показателей, отражающих транспорт кислорода кровью. Проведение предварительной дезоксигенации способствует снижению эффекта O₃ на следующие показатели: pO₂ – на 15,66 % (p<0,05), SO₂ – на 15,92 % (p<0,05) по сравнению с группой, в которой выполнялось только озонирование. Показатель СГК p50_{реал} при этом уменьшается на 14,57 % (p<0,05), отражая сдвиг КДО влево (рис. 2) и приближая ее к значениям контрольной группы.

Также наблюдается снижение p50_{станд} на 22,1 % (p<0,05). Добавление нитроглицерина препятствует проявлению данного эффекта и характеризуется ростом pO₂, SO₂, p50_{реал} и p50_{станд} и сдвигом КДО вправо (рис. 2), а гидросульфид натрия подобным эффектом не обладает. В группе дезоксигенации наблюдается снижение всех показателей КТФ крови по сравнению с контролем.

Параметры прооксидантно-антиоксидантного баланса приведены в табл. 2. Инкубация крови с озонированным изотоническим раствором хлорида натрия в условиях предварительной дезоксигенации характеризуется снижением содержания ДК, МДА, концентрации α-токоферола, ретинола в плазме по сравнению с группой, в которой выполнялось только озонирование, активность каталазы при этом не изменяется. Добавление нитроглицерина и гидросульфида натрия не вызывает значимых изменений данных показателей, за исключением каталазы, по сравнению с алиquotой, в которую вводили озон, предварительно дезоксигенировав. При дезоксигенации не наблюдается изменений параметров прооксидантно-антиоксидантного баланса по сравнению с контролем.

Содержание NO₃⁻/NO₂⁻ и H₂S в плазме крови под действием O₃ в условиях дезоксигенации возрастает на 28,57 % (p<0,05) и на 31,25 % (p<0,05) соответственно (рис. 3). Добавление нитроглицерина и гидросульфида натрия в условиях дезоксигенации приводит к еще

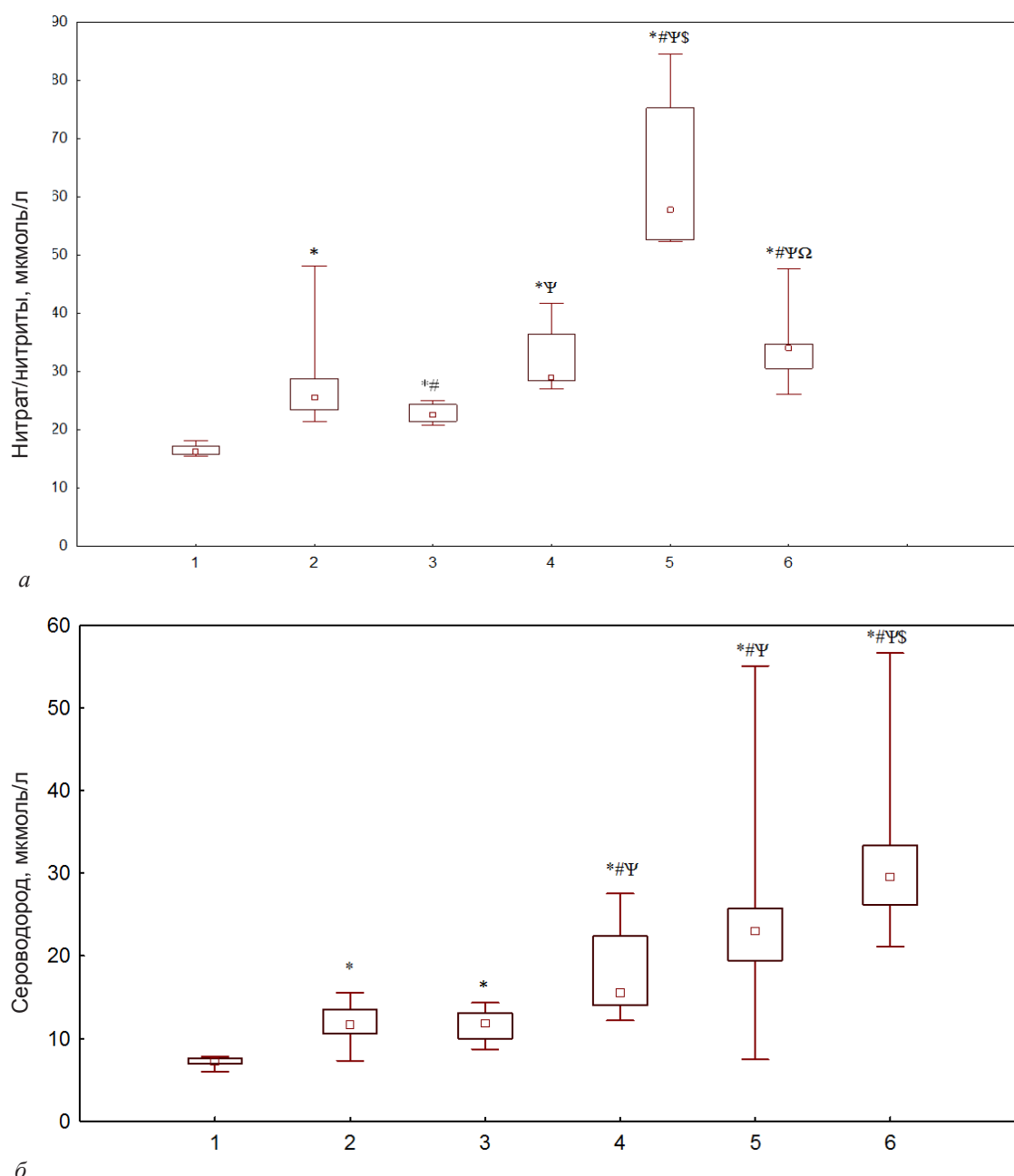


Рис. 3. Концентрация нитрат/нитритов (а) и сероводорода (б) в плазме крови в гипоксических условиях: 1–6 – экспериментальные группы; изменения по сравнению с группами * – контрольной; # – дезоксигенация + изотонический раствор; Ψ – озон; \$ – дезоксигенация + озон; Ω – дезоксигенация + нитроглицерин + озон

Fig. 3. Total content of nitrate/nitrite (A) and concentration of hydrogen sulfide (B) in blood plasma under hypoxic conditions: 1–6 – experimental groups; * – compared to control; # – deoxygenation + isotone. Solution; Ψ – ozone; \$ – deoxygenation + ozone; Ω – deoxygenation + nitroglycerin + ozone

более существенному росту $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ – на 98,45 % ($p < 0,05$) и на 17,38 % ($p < 0,05$) соответственно. Уровень H_2S растет в группах с нитроглицерином и гидросульфидом натрия на 48,13 % ($p < 0,05$) и на 90,22 % ($p < 0,05$), соответственно по сравнению с группой озонирования в условиях дезоксигенации.

При гипоксии наблюдается ухудшение процессов тканевого транкапиллярного обмена кислорода, снижение возможностей микроциркуляторного русла для доставки кислорода в ткани [13]. Выявлены функциональные взаимосвязи различных компонентов регуляции микрогемодинамики и показателей КТФ крови при проведении гипоксического теста [14]. Озон значительно улучшает микроциркуляцию за счет повышения функциональной активности капил-

ляров, изменения физико-химических характеристик крови и, в частности, кислородсвязывающих свойств крови [15]. Как видим из проведенных опытов, отмечаются изменения КТФ крови под влиянием озона в гипоксических условиях и при добавлении доноров газотрансмиттеров. Ранее нами было показано, что инкубация крови с озоном и нитроглицерином (донором NO) приводит к усилению эффекта данного газа на КТФ крови (рост pO_2 , SO_2), что приводит к уменьшению СГК и сопровождается ростом газотрансмиттеров (NO , H_2S) [11]. Данный факт свидетельствует о важной роли NO в автономной внутриэритроцитарной системе регуляции СГК, действие которого определяется параметрами кислородного обеспечения [21]. Кроме того, следует обратить внимание, что противогипок-

сическое действие O_3 реализуется, в том числе, за счет влияния на синтез монооксида азота [22], увеличения концентрации 2,3-дифосфоглицерата в эритроцитах, повышения пластичности мембран красных кровяных клеток и уменьшения вязкости крови [10].

NO обеспечивает адаптацию организма к изменениям pO_2 через влияние на механизмы формирования функционального статуса эритроцитов [23]. Кроме того, данный газотрансмиттер является основным регулятором тонуса сосудов и ангиопротектором, что обуславливает его влияние на локальную микроциркуляцию [14]. Описаны сложные взаимоотношения между O_3 и группой ферментов NO-синтаз, генерирующих образование NO [10]. O_3 может активировать индуцибельную синтазу оксида азота, что приводит к росту концентрации последнего [23], а также восстанавливает NO_2^- при низких значениях pH [24]. В этих механизмах участвует и другой газотрансмиттер сероводород. Эритроциты продуцируют эндогенный H_2S , используя в качестве субстрата 3-меркаптопируват [25]. Продукция H_2S в красных клетках крови зависит от уровня NO в сыворотке крови [26]. Взаимодействие доноров монооксида азота и сероводорода может иметь значение для модификации сродства гемоглобина к кислороду через образование различных дериватов гемоглобина.

В наших исследованиях показана роль H_2S в эффекте озона на кислородзависимые процессы. H_2S участвует в защите от окислительного стресса, вызванного гипоксией [27]. Наблюдается увеличение данного газотрансмиттера в условиях дезоксигенации, а добавление нитроглицерина и гидросульфида натрия способствует еще более значительному его росту. В результате действия S-нитрозосоединений происходит трансформация молекул гемоглобина: окисление в их составе железа, нитрозилирование гема и, вероятно, SH-групп, что изменяет свойства гемопroteина, его способность связывать и удерживать кислород [28]. H_2S выполняет и антиоксидантные функции за счет модификаций активности ферментов, в том числе каталазы [29].

Заключение

Таким образом, предварительная обработка крови дезоксигенирующей газовой смесью уменьшает влияние озона на КТФ крови, что проявляется в снижении pO_2 , SO_2 , $p50$ по сравнению с группой, в которую вводили только озон. Введение нитроглицерина препятствует проявлению данного эффекта, а гидросульфид натрия подобного действия не оказывает. Действие озона в данных условиях приводит к росту содержания NO_3^-/NO_2^- и H_2S , а добавление нитроглицерина и гидросульфида натрия существенно увеличивает эти показатели, что отражает участие данных газотрансмиттеров в модификации КТФ крови. В крови, обработанной дезоксигенирующей газовой смесью при добавлении озона, а также в группе с нитроглицерином наблюдается уменьшение показателей перекисного окисления липидов (МДА, ДК) и антиоксидантной защиты (ретинола и α -токоферола). Полученные результаты демонстрируют влияние озона на КТФ крови и синтез NO, что будет важно для понимания механизмов оксигенации тканей на микроциркуляторном уровне в гипоксических условиях.

Финансирование / Acknowledgments

Исследование выполнено при финансовой поддержке БРФФИ и РФФИ в рамках научного проекта (№ M20P-428 и № 20-515-00019). / The reported study was funded by BRFFR and RFBR, project number M20P-428 and 20-515-00019.

Конфликт интересов / Conflict of interests

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflicts of interest.

Соответствие нормам этики / Compliance with ethical principles

Исследование одобрено локальным этическим комитетом. / The study was approved by the local ethics committee.

Литература / References

1. Муравьев А. В., Михайлов П. В., Тихомирова И. А. Микроциркуляция и гемореология: точки взаимодействия // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2017. – Т. 16, № 2. – С. 90–100. [Muravyov AV, Mikhailov PV, Tikhomirova IA. Microcirculation and Hemorheology: points of interaction // Regional blood circulation and microcirculation. – 2017; 16(2):90–100. (In Russ.)]. Doi: 10.24884/1682-6655-2017-16-2-90-100.
2. Долганова Т. И., Шихалева Н. Г., Щудло Н. А. Динамика парциального давления газов и микроциркуляция в коже несвободных кожно-фасциальных лоскутов с осевым кровоснабжением после их транспозиции // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2012. – Т. 11, № 4. – С. 18–22. [Dolganova TI, Shikhaleva NG, Chitoudlo NA. The dynamics of gases partial pressure and microcirculation in the axial flaps skin after transposition // Regional blood circulation and microcirculation. 2012; 11(4):18–22. (In Russ.)]. Doi: 10.24884/1682-6655-2012-11-4-18-22.
3. Зинчук В. В. Кислородтранспортная функция крови и газотрансмиттер сероводород // Успехи физиолог. наук. – 2021. – Т. 52, № 3. – С. 21–35. [Zinchuk VV. Oxygen transport functions of blood and hydrogen sulfide gazotransmitter // Usp Fiziol Nauk. 2021; 52(3):21–35. (In Russ.)].
4. Абулдинов А. С. Особенности кислородтранспортной функции крови у беременных с внебольничной пневмонией (обзор литературы) // Бюлл. физиологии и патологии дыхания. – 2020. – № 75. – С. 126–136. [Abuldinov AS. Bulletin Physiology and Pathology of Respiration. 2020; (75):126–136. (In Russ.)]. Doi: 10.36604/1998-5029-2020-75-126-136.
5. Wang WJ, Zhan Y, Zhang DY. Research progress in treatment and nursing of vascular crisis after replantation of severed finger // J of Traumatic Surgery. 2016; (18):572–574.
6. Зинчук В. В., Билецкая Е. С. Эффект озона на кислородтранспортную функцию крови при различных режимах воздействия в опытах in vitro // Биофизика. – 2020. – Т. 65, № 5. – С. 915–919. [Zinchuk VV, Bileczkaya ES. Different ozone dosage effects on oxygen transport in blood, in vitro experiments. Biofizika. 2020; 65(5):915–919. (In Russ.)]. Doi: 10.31857/S0006302920050099.
7. Зинчук В. В., Билецкая Е. С., Гуляй И. Э. Эффекты озона на кислотно-основное состояние крови в опытах in vitro // Новости медико-биологических наук. – 2018. – Т. 17, № 2. – С. 40–44. [Zinchuk VV, Bileczkaya ES, Gulyaj IE. Effect of ozone on the prooxidant-antioxidant balance in the blood in vitro studies. Novosti mediko-biologicheskix nauk. 2018; 17(2):40–44. (In Russ.)].

8. Mehraban F, Seyedarabi A, Ahmadian S, Mirzaaghaei V, Moosavi-Movahedi AA. Personalizing the safe, appropriate and effective concentration(s) of ozone for a non-diabetic individual and four // *J Transl Med*. 2019;17(1):227. Doi: 10.1186/s12967-019-1973-5.
9. Adali Y, Eroğlu HA, Makav M, Guvendi GF. Efficacy of Ozone and Selenium Therapy for Alcoholic Liver Injury: An Experimental Model // *In Vivo*. 2019;33(3):763–769. Doi: 10.21873/in vivo.11537.
10. Clavo B, Santana-Rodríguez N, Llontop P, Gutiérrez D, Suárez G, López L, Rovira G, Martínez-Sánchez G, González E, Jorge IJ, Perera C, Blanco J, Rodríguez-Esparagón F. Ozone Therapy as Adjuvant for Cancer Treatment: Is Further Research Warranted // *Evid Based Complement Alternat Med*. 2018;7931849. Doi: 10.1155/2018/7931849.
11. Зинчук В. В., Билецкая Е. С. Эффект озона на кислородтранспортную функцию и прооксидантно-антиоксидантный баланс крови в условиях воздействия на NO-генерирующую систему в опытах in vitro // *Рос. физиолог. журн. им. И. М. Сеченова*. – 2021. – Т. 107, № 1. – С. 16–27. [Zinchuk VV, Bileczkaya ES, Gulyaj IE. Effect of ozone on blood oxygen transport function and pro-oxidant-antioxidant balance in under conditions of changing nitrogen monoxide formation in vitro experiments // *Russian Journal of Physiology*. 2021;107(1):16–27. (In Russ.)]. Doi: 10.31857/S0869813921010106.
12. Severinghaus JW. Blood gas calculator // *J. Appl. Physiol*. 1966;21(5):1108–1116. Doi: 10.1152/jappl.1966.21.3.1108.
13. Сабиров И. С., Мамедова К. М., Султанова М. С. и др. Роль и значение гипоксического компонента в развитии осложнений новой коронавирусной инфекции (COVID-19) // *The Scientific Heritage*. – 2021. – № 62. – С. 21–28. [Sabirov I, Mamedova K, Sultanova M, Kozhoeva M, Ibadullaev B. The role and significance of the hypoxic component in the development of complications of the new coronavirus infection (COVID-19). 2021;(62):21–28. (In Russ.)]. Doi: 10.24412/9215-0365-2021-62-2-21-28.
14. Глазачев О. С., Дудник О. С. Особенности реактивности сосудов микроциркуляторного русла практически здоровых людей при моделировании острой умеренной гипоксии и гипероксии // *Физиология человека*. – 2013. – Т. 39, № 4. – С. 400–406. [Glazachev OS, Dudnik EN. Microcirculatory reactivity features in apparently healthy individuals during acute moderate hypoxia and hyperoxia modeling. – 2013. 37(4):400–406. (In Russ.)]. Doi: 10.7868/S0131164613030089.
15. He S, Chen W, Xia J, Lai Z, Yu D, Yao J, Cai S. Effects of ozone autohemotherapy on blood VEGF, TGF- β and PDGF levels after finger replantation // *Ann Palliat Med*. 2020;9(5):3332–3339. Doi: 10.21037/apm-20-1467.
16. Гаврилов В. Б., Мишкорудная М. И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // *Лаб. дело*. – 1983. – № 3. – С. 33–36. [Gavrilov VB, Mishkorudnaya MI. Spectrophotometric determination of the content of lipid hydroperoxides in blood plasma. *Lab. Delo*. – 1983;(3):33–36. (In Russ.)].
17. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. – 2-е изд. – Минск, 2002. – С. 465. [Kamyshnikov VS. Handbook of clinical and biochemical laboratory diagnostics. Minsk. 2002:465].
18. Taylor SL, Lamden MP, Tappel AL. Sensitive fluorometric method for tissue tocopherol analysis // *Lipids*. 1976;11(7):530–538. Doi: 10.1007/BF02532898.
19. Bryan NS, Grisham MB. Methods to detect nitric oxide and its metabolites in biological samples // *Free Radic. Biol. Med*. 2007;43(5):645–657. Doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.04.026.
20. Norris EJ, Culberson CR, Narasimhan S, Clemens MG. The liver as central regulator of hydrogen sulfide. *Shock*. 2011;36(3):242–250. Doi: 10.1097/SHK.0b013e3182252ee7.
21. Зинчук В. В. Степура Т. Л. Модификация оксидом азота сродства гемоглобина к кислороду в различных условиях кислородного режима // *Рос. физиолог. журн. им. И. М. Сеченова*. – 2013. – Т. 99, № 1. – С. 111–119. [Zinchuk VV, Stepuro TL. Nitric oxide modification of hemoglobin oxygen affinity in different conditions of oxygen regime // *Russian Journal of Physiology*. 2013;99(1):111–119 (In Russ.)].
22. Роль оксида азота в патофизиологии и лечении хронической обструктивной болезни легких / О. Ю. Кытикова, Т. А. Гвозденко, М. В. Антонюк, Т. П. Новгородцева // *Бюлл. физиологии и патологии дыхания*. – 2019. – № 71. – С. 105–111. [Kytikova OYu, Gvozdenko TA, Antonyuk MV, Novgorodtseva TP. The role of nitric oxide in pathophysiology and treatment of chronic obstructive pulmonary disease. *Bulletin of physiology and pathology of respiration*. 2019;(71):105–111. (In Russ.)]. Doi: 10.12737/article_5c89ab4f8523c5.66345570.
23. Zhao Y, Wang X, Noviana M, Hou M. Nitric oxide in red blood cell adaptation to hypoxia // *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. 2018;50(7):621–634. Doi: 10.1093/abbs/gmy055.
24. Jaitovich A, Jourdeuil D. A Brief Overview of Nitric Oxide and Reactive Oxygen Species Signaling in Hypoxia-Induced Pulmonary Hypertension // *Adv Exp Med Biol*. 2017;(967):71–81. Doi: 10.1007/978-3-319-63245-2_6.
25. Jin Z, Zhang Q, Wondimu E, Verma R, Fu M, Shuang T, Arif HM, Wu L, Wang R. H₂S-stimulated bioenergetics in chicken erythrocytes and the underlying mechanism // *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2020;319(1):69–78. Doi: 10.1152/ajpregu.00348.2019.
26. Zheng M, Zeng Q, Shi XQ, Zhao J, Tang CS, Sun NL, Geng B. Erythrocytic or serum hydrogen sulfide association with hypertension development in untreated essential hypertension // *Chin Med J (Engl)*. 2011;124(22):3693–3701. PMID: 22340226.
27. Wu J, Pan W, Wang C, Dong H, Xing L, Hou J, Fang S, Li H, Yang F, Yu B. H₂S attenuates endoplasmic reticulum stress in hypoxia-induced pulmonary artery hypertension // *Biosci Rep*. 2019;39(7):BSR20190304. Doi: 10.1042/BSR20190304.
28. Rifkind JM, Salgado MT, Cao Z. Regulation of oxygen delivery by the reaction of nitrite with RBCs under hypoxic conditions // *Adv Exp Med Biol*. 2012;(737):183–189. Doi: 10.1007/978-1-4614-1566-4_27.
29. Tabassum R, Jeong NY. Potential for therapeutic use of hydrogen sulfide in oxidative stress-induced neurodegenerative diseases // *Int J Med Sci*. 2019;16(10):1386–1396. Doi: 10.7150/ijms.36516.

Информация об авторах

Зинчук Виктор Владимирович – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой нормальной физиологии, Гродненский государственный медицинский университет, г. Гродно, Республика Беларусь, e-mail: zinchuk@grsmu.by.

Билецкая Елена Степановна – аспирант, ассистент кафедры нормальной физиологии, Гродненский государственный медицинский университет, г. Гродно, Республика Беларусь, e-mail: biletskaya.e@inbox.ru.

Authors information

Zinchuk Victor V. – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Normal Physiology, Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus, e-mail: zinchuk@grsmu.by.

Biletskaya Elena S. – post-graduate student, assistant of the Department of Normal Physiology, Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus, e-mail: biletskaya.e@inbox.ru.