

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Объект авторского права

УДК 612.014.464:612.127.2:577.121.7(043.3)

БИЛЕЦКАЯ
Елена Степановна

**КИСЛОРОДСВЯЗЫВАЮЩИЕ СВОЙСТВА КРОВИ
В УСЛОВИЯХ ВЛИЯНИЯ ОЗОНА
И МЕХАНИЗМЫ ИХ ФОРМИРОВАНИЯ**

Автореферат
диссертации на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

по специальности 03.03.01 – физиология

Минск, 2024

Научная работа выполнена в учреждении образования «Гродненский государственный медицинский университет»

Научный руководитель: **Зинчук Виктор Владимирович**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой нормальной физиологии учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет»

Официальные оппоненты: **Семененя Игорь Николаевич**, доктор медицинских наук, профессор кафедры нормальной физиологии учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет»

Мойсеёнок Андрей Георгиевич, доктор биологических наук, член-корреспондент НАН Беларуси, профессор, заведующий отделом витаминологии и нутрицевтики Республиканского научно-исследовательского унитарного предприятия «Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси»

Оппонирующая организация: учреждение образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Защита состоится 3 октября 2024 года в 14.00 часов на заседании совета по защите диссертаций Д 03.18.02 при учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет» по адресу: 220083, г. Минск, пр-т Дзержинского, 83, тел./факс: 8(017)302 16 21; e-mail: uchsovet@bsmu.by

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет».

Автореферат разослан «23» августа 2024 года.

Учёный секретарь
совета по защите диссертаций Д 03.18.02
доктор медицинских наук, доцент



А. Г. Кадушкин

ВВЕДЕНИЕ

Озон (O_3) широко используется в клинической практике для лечения и реабилитации пациентов с разными заболеваниями [Li Y. et al., 2024], в частности с коронавирусной инфекцией [Fernández-Cuadros M. E. et al., 2020]. Данный газ оказывает множество положительных эффектов на органы и системы организма, обусловленных противовирусным, иммуномодулирующим, противовоспалительным действием, а также улучшением оксигенации тканей и стимуляцией метаболизма [Hernández A. et al., 2020]. Применяются разнообразные методы введения O_3 – подкожное, внутримышечное, внутрисуставное, внутривенное, аутогемотерапия [Серов В. Н. и др., 2022]. Данный газ влияет на различные компоненты системы крови [Hernández A. et al., 2020], тем не менее многие механизмы его действия остаются нераскрытыми.

Обсуждаются вопросы участия газотрансмиттера монооксида азота (NO) в механизмах действия озона [Dengiz E. et al., 2022], применение которого способствует увеличению экспрессии эндотелиальной и индуцибельной изоформ NO-синтазы [Alrcan S. et al., 2014]. Взаимодействие газотрансмиттеров может оказывать влияние на механизмы транспорта кислорода кровью, поскольку известно, что NO и сероводород (H_2S) играют важную роль в адаптации организма к гипоксическим условиям [Zhang H. et al., 2021]. Уровень H_2S возрастает при низкой концентрации кислорода (O_2) в крови [Khattak S. et al., 2021] и также, как и NO, данный фактор может влиять на проявление окислительного и нитроокислительного стресса, которые являются, важнейшими элементами, в интерактоме реактивных видов [Cortese-Krott M. M. et al., 2017]. Находясь в тесной интеграции NO и H_2S , оказывают взаимосвязанные эффекты, в частности, усиление синтеза сероводорода, увеличивает активность NO-синтазы и, следовательно, продукцию NO [Xiao Q., 2021; Marinko M. et al., 2021].

Внутриэритроцитарные факторы (ионы хлора, водорода, органические фосфаты и др.), модифицируя сродство гемоглобина к кислороду (СГК), участвуют в поддержании оптимальной оксигенации крови и тканей [Webb K. L. et al., 2022; Stroganov S. et al., 2024]. Ведущую роль в регуляции кислородсвязывающих свойств крови, осуществляют такие газы, как углекислый газ (CO_2) и O_2 [Premont R. T. et al., 2020].

Однако эффект O_3 на кислородсвязывающие свойства крови и её эритроцитарный компонент, ассоциированный с модуляцией системы газотрансмиттеров (NO и H_2S) и при различных концентрациях O_2 и CO_2 , изучен недостаточно, что и обуславливает актуальность выбранной темы исследования.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с научными программами (проектами), темами

Диссертация выполнена в рамках проектов ГПНИ «Изучить молекулярно-генетические NO-зависимые механизмы формирования кислородного гомеостаза и его нарушений» (номер госрегистрации 20190511, срок выполнения: 2019–2020 гг.), «Изучить значение NO-зависимых механизмов формирования кислородсвязывающих свойств эритроцитов в адаптивных реакциях на гипоксию различного генеза» (номер госрегистрации 6796483, срок выполнения: 2021–2023 гг.); научно-исследовательской работы учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет» «Исследование стресс-лимитирующих и стресс-реализующих механизмов адаптации организма» (номер госрегистрации 0170643, срок выполнения: 2017–2021 гг.); международного научного проекта «БРФФИ–РФФИ-2020» «Исследование роли газотрансмиттеров в механизмах транспорта кислорода кровью в различных условиях кислородного обеспечения» (номер госрегистрации 20201301, срок выполнения: 2020–2022 гг.).

Тема диссертации соответствует приоритетным направлениям фундаментальных и прикладных научных исследований Республики Беларусь на 2016–2020 годы, утверждённым Постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 12.03.2015 № 190 (п. 4 – Медицина и фармация), а также приоритетным направлениям научной, научно-технической и инновационной деятельности на 2021–2025 годы, утверждённым Указом Президента Республики Беларусь от 07.05.2020 № 156 (п. 2 – Биологические, медицинские, фармацевтические и химические технологии производства).

Цель, задачи, предмет и объект исследования

Цель исследования: выявить особенности кислородсвязывающих свойств крови в условиях влияния озона и механизмы их формирования в опытах *in vitro*.

В соответствии с целью исследования решались следующие **задачи:**

1. Оценить эффект озона при различных режимах воздействия на кислородсвязывающие свойства цельной крови, активность перекисного окисления липидов и показателей антиоксидантной защиты (в эритроцитарной массе и плазме крови), концентрацию нитрат/нитритов, сероводорода (в плазме крови).

2. Определить влияние озона на кислородсвязывающие свойства крови и процессы пероксидации липидов, концентрацию нитрат/нитритов, сероводорода в плазме крови в условиях модуляции синтеза монооксида азота.

3. Проанализировать изменения показателей кислородсвязывающих свойств, прооксидантно-антиоксидантного баланса и содержания газотрансмиттеров в крови под влиянием озона в условиях модуляции синтеза сероводорода.

4. Выявить влияние озона на сродство гемоглобина к кислороду суспензии эритроцитов в условиях модуляции системы газотрансмиттеров монооксида азота и сероводорода.

5. Оценить эффект озона на кислородсвязывающие свойства крови, процессы перекисного окисления липидов, факторы антиоксидантной защиты, концентрацию нитрат/нитритов и сероводорода при различных значениях парциального давления кислорода.

6. Установить влияние озона на кислородсвязывающие свойства крови, показатели прооксидантно-антиоксидантного баланса, концентрацию нитрат/нитритов и сероводорода при различных значениях парциального давления углекислого газа.

Объект исследования: венозная кровь (плазма и эритроцитарная масса) белых крыс-самцов линии Вистар.

Предмет исследования: кислородсвязывающие свойства крови, газотрансмиттеры (монооксид азота и сероводород), процессы перекисного окисления липидов, антиоксидантная защита.

Научная новизна

Впервые показано, что действие озона в концентрации 2, 6 и 10 мг/л на кровь в опытах *in vitro* при экспозиции 30 и 60 мин дозозависимо приводит к уменьшению сродства гемоглобина к кислороду, увеличению содержания нитрат/нитритов и сероводорода в плазме крови.

Установлено, что добавление озонированного изотонического раствора натрия хлорида в кровь при внесении донора монооксида азота – нитроглицерина, вызывает более выраженный сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина вправо и повышает концентрации нитрат/нитритов, сероводорода в плазме крови, тогда как субстрат NO-синтазы L-аргинин в аналогичных условиях не оказывает влияния на кислородсвязывающие свойства крови.

Доказано, что озон при добавлении ингибитора синтеза сероводорода пропаргилглицина приводит к уменьшению показателей кислородсвязывающих свойств крови, тогда как натрия гидросульфид не оказывает подобного эффекта. Внесение нитроглицерина в комбинации с натрия гидросульфидом увеличивает влияние данного газа на сродство гемоглобина к кислороду и активирует антиоксидантную систему защиты. При добавлении озона пропаргилглицин уменьшает уровень нитрат/нитритов в плазме крови,

а натрия гидросульфид также, как и в комбинации с нитроглицерином, увеличивает. Показано, что озон как в крови, так и в эритроцитарной суспензии уменьшает сродство гемоглобина к кислороду, что отражает ведущую роль именно эритроцитарного звена крови в реализации данного эффекта.

Установлено, что озон как при высоком, так и при низком парциальных давлениях углекислого газа, а также высоком парциальном давлении кислорода и в условиях модуляции синтеза монооксида азота и сероводорода приводит к увеличению показателей кислородсвязывающих свойств крови и концентраций нитрат/нитритов и сероводорода. В условиях действия озона добавление нитроглицерина при разных парциальных давлениях кислорода и низком парциальном давлении углекислого газа уменьшает сродство гемоглобина к кислороду.

Положения, выносимые на защиту

1. При инкубации крови с озонированным изотоническим раствором натрия хлорида (в концентрации 2, 6, 10 мг/л) в течение 30 и 60 мин кривая диссоциации оксигемоглобина сдвигается вправо, увеличиваются активность процессов перекисного окисления липидов, показатели антиоксидантной защиты (в эритроцитарном компоненте, в плазме крови), содержание нитрат/нитритов и сероводорода (в плазме крови). С повышением концентрации озона данные эффекты дозозависимо усиливаются, а увеличение времени экспозиции не оказывает подобного влияния.

2. Газотрансмиттеры монооксид азота и сероводород модулируют эффект озона на кислородсвязывающие свойства крови. Инкубация крови с озонированным изотоническим раствором натрия хлорида (в концентрации 6 мг/л) в присутствии нитроглицерина усиливает эффект данного газа на кислородсвязывающие свойства крови, уменьшает сродство гемоглобина к кислороду, тогда как ингибитор фермента NO-синтазы метиловый эфир N^G-L-аргинина (L-NAME) и L-аргинин не влияют на данные показатели. Ингибитор синтеза сероводорода пропаргилглицин уменьшает влияние озона на сродство гемоглобина к кислороду. Эффект озона на кислородсвязывающие свойства крови реализуется через внутриэритроцитарные модуляторы, что подтверждается изменением показателей в опытах на суспензии эритроцитов.

3. Добавление озона при повышенном парциальном давлении кислорода способствует сдвигу кривой диссоциации оксигемоглобина вправо, а внесение нитроглицерина усиливает данный эффект, сопровождаемый ростом концентраций нитрат/нитритов и сероводорода в плазме крови. При пониженном парциальном давлении кислорода эффект озона характеризуется уменьшением

показателей кислородсвязывающих свойств крови, тогда как воздействие нитроглицерина препятствует проявлению данного эффекта.

4. Инкубация крови с озонированным изотоническим раствором натрия хлорида при пониженном парциальном давлении углекислого газа уменьшает сродство гемоглобина к кислороду. Внесение нитроглицерина потенцирует данный эффект, что сопровождается увеличением содержания нитрат/нитритов и сероводорода в плазме крови. При повышенном парциальном давлении углекислого газа добавление озона приводит к сдвигу кривой диссоциации оксигемоглобина вправо, при этом наблюдается рост уровня сероводорода, что свидетельствует о важной роли данного газотрансммиттера в регуляции кислородсвязывающих свойств крови.

Личный вклад соискателя учёной степени

Автором совместно с научным руководителем сформулированы цель, задачи исследования, положения, выносимые на защиту, и разработана общая модель эксперимента в условиях *in vitro*. Исследования были проведены на базе кафедры нормальной физиологии и исследовательской группы отраслевой лаборатории молекулярной медицины учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет».

Лично соискателем выполнен патентно-информационный поиск, анализ отечественной и зарубежной научной литературы по теме диссертации, поставлены эксперименты, проведена статистическая обработка и анализ полученных данных, сформулированы выводы и оформлены результаты диссертационного исследования, которые изложены в виде научных работ и разделов диссертации.

Материалы диссертационной работы опубликованы в рецензируемых научных журналах, соответствующих п. 19 Положения о присуждении учёных степеней и присвоении учёных званий, научных сборниках, тезисах и материалах конференций, отражают данные о вкладе газотрансммиттеров монооксида азота и сероводорода в механизмы действия озона на уровне эритроцитарного компонента [1–10–А, 12–А, 14–16–А, 18–А, 20–23–А, 25–26–А, 28–32–А, 36–38–А] – вклад соискателя 80%, [11–А, 13–А, 17–А, 19–А, 24–А, 27–А, 33–35–А, 39–А] – вклад соискателя 85%.

Соискатель учёной степени выражает благодарность сотрудникам кафедры нормальной физиологии, ведущему научному сотруднику отраслевой лаборатории молекулярной медицины учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет» канд. биол. наук, доценту И. Э. Гуляй, а также канд. мед. наук Н. А. Гурло за консультативную помощь при планировании, обсуждении научных результатов и содействие в проведении исследований.

Апробация диссертации и информация об использовании её результатов

Результаты, полученные в ходе исследования, были представлены на 19 научных форумах: научно-практической конференции «Актуальные вопросы физиологии» (Гродно, 2019), ежегодных научных конференциях «Актуальные проблемы медицины» (Гродно, 2020, 2021, 2022); международном интернет-симпозиуме «Роль микрореологии и микроциркуляции при разных вариантах обеспечения организма кислородом» (Гродно-Ярославль, 2021); международной научной конференции, посвящённой 75-летию со дня рождения профессора Барковского Е. В. «Физико-химическая биология как основа современной медицины» (Минск, 2021); XXVIII Congress of the Polish Physiological Society (Gdańsk, 2021); научно-практической конференции «Кислород и свободные радикалы» (Гродно, 2022); научно-практической конференции с международным участием, посвящённой 85-летию со дня рождения профессора Борисюка М. В. (Гродно, 2022); международном интернет-симпозиуме «Микроциркуляция, реология крови и кислородный гомеостаз» (Гродно-Ярославль, 2022); XIX симпозиуме «Эколого-физиологические проблемы адаптации» (Казань, 2022), международной научной конференции «Фундаментальные и прикладные науки – медицине» (Минск, 2022); VI междисциплинарной конференции с международным участием «Современные проблемы системной регуляции физиологических функций» (Москва, 2022); Всероссийской конференции с международным участием «Интегративная физиология» (Санкт-Петербург, 2022); научно-практической конференции «Актуальные вопросы фармакологии и фармакотерапии» (Гродно, 2023); IX Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных и студентов с международным участием «ВолгаМед» (Нижний Новгород, 2023); научно-практической конференции с международным участием «От молекулы к системной организации физиологических функций» (Курск, 2023); республиканской научно-практической конференции «Актуальные проблемы общей и клинической биохимии – 2023» (Гродно, 2023); республиканской научно-практической конференции с международным участием «Медицинский университет: современные взгляды и новые подходы» (Гродно, 2023).

Опубликованность результатов диссертации

По теме диссертации опубликовано 40 печатных работ: из них 11 статей в научных рецензируемых журналах, соответствующих п. 19 Положения о присуждении учёных степеней и присвоении учёных званий (7,85 авторского листа), 8 из которых опубликованы в зарубежных журналах, 28 публикаций – в рецензируемых научных сборниках, в сборниках материалов и тезисов докладов научных конференций (4,55 авторского листа); 1 патент Республики Беларусь на изобретение (0,26 авторского листа). Объем всех опубликованных материалов по теме диссертации – 12,7 авторского листа.

Структура и объём диссертации

Диссертация изложена на русском языке на 145 страницах компьютерного текста. Работа структурирована, включает содержание, перечень сокращений и обозначений, введение, общую характеристику работы, главу, посвящённую обзору литературы, главу с описанием материалов и методов исследования, 5 глав результатов собственных исследований, главу, где приводится анализ и обобщение полученных данных, заключение, библиографический список, содержащий 208 источников (из них 79 – на русском языке и 129 – на иностранных языках), список публикаций соискателя учёной степени, приложений, в которых представлены копии документов, подтверждающих научную и практическую значимость результатов исследования. В диссертации содержится 17 таблиц и 29 рисунков.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Материал и методы исследования

Экспериментальная часть диссертационной работы выполнена на 92 лабораторных половозрелых крысах-самцах линии Вистар. Манипуляции на животных проводились в соответствии с рекомендациями и разрешением комитета по биомедицинской этике учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет» протокол № 1 от 14.01.2019 г. С помощью озонотерапевтической установки УОТА-60-01 «Медозон» (Российская Федерация) насыщали изотонический раствор 0,9% NaCl. В установке предусмотрено измерение концентрации O_3 оптическим методом в ультрафиолетовом диапазоне.

В первой серии опытов диссертационного исследования инкубировали кровь с 0,9% озонированным раствором натрия хлорида (концентрация 2, 6, 10 мг/л) на протяжении 30 и 60 мин. Во второй серии кровь инкубировали с 0,9% озонированным раствором натрия хлорида в концентрации 6 мг/л в соотношении 3:1 и растворами нитроглицерина (0,05 ммоль/л), L-аргинина (3 ммоль/л), метилового эфира N ω -нитро-L-аргинина (1,25 ммоль/л), комбинацией L-NAME и L-аргинина (время инкубации 60 мин). В третьей серии к цельной крови добавляли O_3 (6 мг/л) и растворы, содержащие натрия гидросульфид (NaHS) (0,38 ммоль/л), комбинацию нитроглицерина (0,05 ммоль/л) и NaHS (0,38 ммоль/л), DL-пропаргилглицин (0,73 ммоль/л).

В четвёртой серии на эритроцитарную суспензию воздействовали O_3 и растворами нитроглицерина, NaHS в установленных выше концентрациях. С целью получения суспензии эритроцитов образцы крови были центрифугированы при 3000 об/мин в течение 10 мин для разделения плазмы и эритроцитов, затем дважды промыты охлаждённым изотоническим раствором,

после чего разделены на 4 группы по 1,2 мл (гематокрит 40%) и перемешаны с озонированным изотоническим раствором натрия хлорида в объёме 1 мл (в контроле – без озонирования).

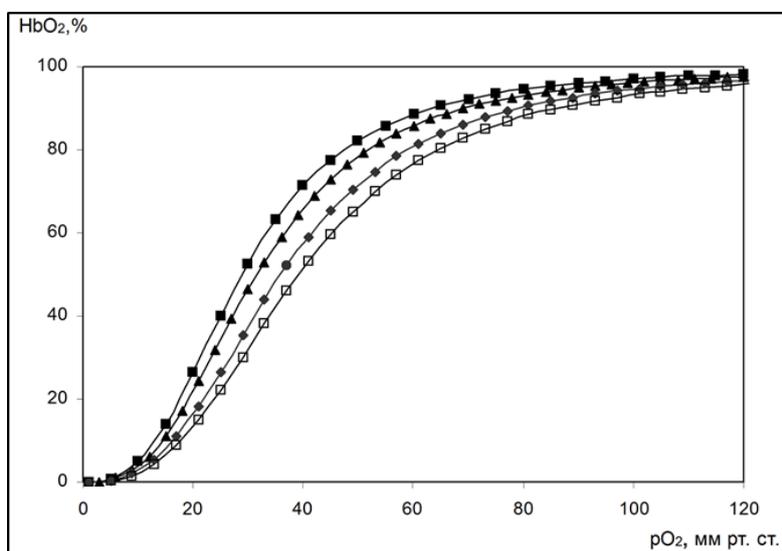
В заключительной серии опытов осуществлялись два варианта воздействия на цельную кровь: 1) предварительная обработка газовыми смесями двух составов (94,5% O₂; 5,5% CO₂ и 94,5% N₂; 5,5% CO₂); 2) предварительная обработка газовыми смесями двух составов (9,5% CO₂; 3,5% O₂; 87,0% N₂ и 4,2% CO₂; 5,3% O₂; 90,5% N₂); далее добавляли O₃ (6 мг/л) и растворы, содержащие нитроглицерин, NaHS.

Определение показателей кислородсвязывающих свойств крови, таких как напряжение кислорода (pO₂) и углекислого газа (pCO₂), степень оксигенации (SO₂), концентрация водородных ионов (pH), осуществляли при температуре +37 °С на газоанализаторе Stat Profile pHox plus L (Nova Biomedical, США). СГК определяли по показателю p50 (pO₂ крови при 50% насыщении ее O₂) при реальных значениях температуры, pH и pCO₂ (p50_{реал}), а затем рассчитывали p50_{станд} по формуле J. W. Severinghaus. Измерение уровня диеновых конъюгатов (ДК) основано на определении интенсивности поглощения липидным экстрактом монохроматического светового потока в области спектра 233 нм [Камышников В. С., 2002]. Концентрацию малонового диальдегида (МДА) измеряли на спектрофотометре при длине волны для эритроцитарной массы 540 нм по отношению к контролю [Камышников В. С., 2002]. Для определения активности каталазы использовали метод, предложенный М. А. Королюком [1988], концентрации α-токоферола и ретинола – метод S. L. Taylor [1976]. Продукцию NO оценивали по суммарному содержанию нитрат/нитритов (NO₃⁻/NO₂⁻) с помощью реактива Грисса [Bryan N. S., 2007]. Концентрацию H₂S в плазме крови определяли методом, основанным на реакции между сульфид-анионом и раствором р-фенилендиамина в кислой среде [Norris E. J. et al., 2011].

Статистический анализ полученных данных проводился с использованием программы «STATISTICA 10.0» (S/N AXAR207F394425FA-Q, StatSoft, США). Все показатели проверяли на соответствие признака закону нормального распределения с использованием критерия Шапиро-Уилка. Сравнение трех и более независимых групп проводили с помощью рангового дисперсионного анализа Краскела-Уоллиса. Достоверность полученных данных с учетом размеров малой выборки, множественных сравнений оценивалась с использованием U-критерия Манна-Уитни. Проведение парных сравнений уровней показателей внутри групп при повторных измерениях осуществляли с помощью критерия Вилкоксона. Результаты представлены как медиана (Me), 25-й и 75-й квартильный размах.

Результаты собственных исследований

Эффект озона на кислородсвязывающие свойства крови при различных режимах воздействия *in vitro*. Инкубация крови с озонированным изотоническим раствором натрия хлорида, в котором концентрация O_3 составляла 2, 6, 10 мг/л, в течение 30 и 60 мин способствует изменениям показателей кислородсвязывающих свойств крови. При концентрации 10 мг/л O_3 наблюдается наибольший прирост pO_2 . Показатель значения СГК $p50_{реал}$ при воздействии данным газом возрастает. Отмечается его увеличение при концентрации O_3 2 мг/л до 31,6 [28,6; 36,1] ($p < 0,05$) мм рт. ст. (при экспозиции 30 мин) и до 32,2 [28,5; 37,9] мм рт. ст. ($p < 0,05$) (при экспозиции 60 мин) в сравнении с контролем. С увеличением концентрации O_3 отмечается уменьшение СГК, что способствует большей степени сдвига кривой диссоциации оксигемоглобина (КДО) вправо (рисунок 1).



Примечание – ■ – контроль, ▲ – озон (2 мг/л), ◆ – озон (6 мг/л), □ – озон (10 мг/л).

Рисунок 1 – Эффект озонированного изотонического раствора на положение КДО при реальных значениях pH и pCO_2 при экспозиции 60 мин

Инкубация крови с 0,9% озонированным раствором натрия хлорида увеличивает содержание NO и H_2S в плазме крови, что проявляется модификацией её кислородсвязывающих свойств. Отмечается рост NO_3^-/NO_2^- в плазме крови при концентрации O_3 10 мг/л на 94,3% ($p < 0,05$) в сравнении с контролем, а уровень H_2S увеличивается на 71,1% ($p < 0,05$). Инкубация крови с 0,9% озонированным раствором натрия хлорида приводит к повышению уровней МДА, ДК в эритроцитарной массе, а также активации антиоксидантной системы (рост активности каталазы в эритроцитарной массе, концентраций ретинола и α -токоферола в плазме крови).

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют об увеличении таких показателей кислородсвязывающих свойств крови, как $p50$, pO_2 , SO_2 ,

при добавлении озонированного изотонического раствора в экспериментальные образцы. При этом наблюдается дозозависимый эффект – рост данных параметров при повышении концентрации O_3 и, соответственно, более выраженный сдвиг КДО вправо. С увеличением концентрации O_3 возрастает содержание газотрансмиттеров NO_3^-/NO_2^- и H_2S в плазме крови. Наиболее выраженный рост параметров перекисного окисления липидов (ПОЛ) наблюдается при концентрации O_3 6 и 10 мг/л с одновременным увеличением показателей антиоксидантной системы.

Кислородсвязывающие свойства и показатели прооксидантно-антиоксидантного баланса при воздействии на кровь озоном в условиях модуляции синтеза монооксида азота и сероводорода. Применение нитроглицерина в условиях воздействия на NO-генерирующую систему приводит к усилению эффекта O_3 в концентрации 6 мг/л при экспозиции 60 мин на кислородсвязывающие свойства крови. Внесение нитроглицерина увеличивает pO_2 на 24,5% ($p<0,05$), SO_2 – на 14,1% ($p<0,05$), показатель $p50_{реал}$ – на 13,9% ($p<0,05$) по сравнению с группой экспериментальных образцов, получавшей только O_3 . Добавление L-аргинина, L-NAME и их комбинации к образцам крови не изменяет исследуемых параметров. Нитроглицерин усиливает эффект O_3 на СГК, pO_2 и SO_2 , что предполагает участие NO-зависимых механизмов внутриэритроцитарной системы в формировании кислородсвязывающих свойств крови. Добавление нитроглицерина способствует росту концентраций NO и H_2S . Так, при использовании данного донора NO в условиях эксперимента концентрация NO_3^-/NO_2^- значительно увеличивалась (на 183,5%, $p<0,05$) по сравнению с группой экспериментальных образцов, в которую вводили только O_3 . Внесение нитроглицерина и L-аргинина приводит к росту H_2S на 35,3% и 41,6%, $p<0,05$ соответственно. В случае модуляции образования NO показатели ПОЛ и антиоксидантной защиты существенно не изменяются.

При воздействии на H_2S -генерирующую систему выявлено, что ингибитор синтеза H_2S пропаргилглицин уменьшает эффект O_3 на кислородсвязывающие свойства крови и снижает pO_2 и SO_2 . Показатель СГК $p50_{реал}$ при этом уменьшается на 13,6% ($p<0,05$). При добавлении NaHS не усиливается воздействие этого газа на данные параметры, но в комбинации NaHS с нитроглицерином увеличивается влияние O_3 на кислородсвязывающие свойства крови. В нашем исследовании пропаргилглицин уменьшает уровень NO_3^-/NO_2^- в условиях действия O_3 , а NaHS приводит к их росту (таблица 1). Внесение NaHS и нитроглицерина в комбинации способствуют росту H_2S в плазме крови. NaHS увеличивает уровень H_2S на 64,5% ($p<0,05$). Пропаргилглицин не изменяет показатели прооксидантно-антиоксидантного баланса в условиях проведения опыта, тогда как доноры H_2S и NO увеличивают активность каталазы.

Таблица 1 – Концентрация нитрат/нитритов и сероводорода в плазме крови под действием озона в условиях влияния на механизмы синтеза сероводорода (Me [25; 75])

Показатель	Контроль	Озон	Озон + NaHS	Озон + пропаргилглицин	Озон + NaHS + нитроглицерин
n	10	10	10	10	10
Нитрат/нитриты, мкмоль/л	16,2 [15,42; 16,81]	22,9 [22,21; 24,05]*	37,5 [34,92; 39,15]*Ω	11,6 [10,89; 12,17]*Ω#	54,9 [53,47; 56,49]*Ω#Ψ
Сероводород, мкмоль/л	7,5 [7,19; 8,93]	11,3 [7,29; 12,44]	18,6 [15,59; 19,28]*Ω	9,3 [7,46; 11,52]#	24,1 [22,74; 25,35]*Ω#Ψ

Примечание – * – достоверные изменения в сравнении с контролем, Ω – с группой образцов озон, # – с группой образцов озон + NaHS, Ψ – с группой образцов озон + пропаргилглицин.

Эффект O₃ на кислородсвязывающие свойства крови при воздействии на суспензию эритроцитов проявляется ростом pO₂, SO₂; отмечается сдвиг КДО вправо. Добавление нитроглицерина усиливает эффект данного газа на показатели транспорта O₂ в суспензии эритроцитов, а введение донора H₂S не приводит к подобным изменениям. Добавление O₃ в эритроцитарную суспензию увеличивает концентрации МДА и ДК, при этом нитроглицерин и NaHS повышают рост активности каталазы на 46,1% (p<0,05) и 43,8% (p<0,05) соответственно в сравнении с эритроцитарной суспензией с добавлением только O₃.

Таким образом, результаты нашего исследования демонстрируют, что нитроглицерин усиливает эффект O₃ на кислородсвязывающие свойства крови. Внесения нитроглицерина и L-аргинина способствуют активации системы антиоксидантной защиты, однако при этом не происходит снижение процессов ПОЛ. Наблюдается рост NO₃⁻/NO₂⁻ и H₂S в плазме крови при введении донора NO. В условиях влияния на механизмы синтеза H₂S только добавление комбинации нитроглицерина и NaHS приводит к росту параметров транспорта O₂ и способствует сдвигу КДО вправо. Добавление пропаргилглицина, NaHS и нитроглицерина в экспериментальные образцы не приводит к значимым изменениям параметров ПОЛ, однако в группах экспериментальных образцов с NaHS и нитроглицерином отмечается повышение активности каталазы. Введение доноров газотрансмиттеров способствует увеличению уровней NO₃⁻/NO₂⁻ и эндогенного H₂S в плазме крови. Воздействие O₃ приводит к росту показателей кислородсвязывающих свойств эритроцитарной суспензии, что отражает эффект O₃ на систему крови непосредственно за счёт воздействия на эритроцитарное звено. Внесение нитроглицерина усиливает данный эффект, что проявляется в уменьшении SGK и более выраженном сдвиге КДО вправо. Отмечается увеличение показателей ПОЛ в эритроцитарной массе

при добавлении O_3 . Однако при этом регистрируется рост активности каталазы в эритроцитарной массе в условиях введения доноров газотрансмиттеров NO и H_2S .

Кислородсвязывающие свойства и прооксидантно-антиоксидантный баланс крови в условиях действия озона при различных парциальных давлениях кислорода и углекислого газа. Гипероксия усиливает влияние O_3 на кислородсвязывающие свойства крови. Внесения $NaHS$ и нитроглицерина увеличивают данный эффект, особенно донор NO : pO_2 и SO_2 возрастают на 25,9% ($p < 0,05$) и 23,2% ($p < 0,05$) соответственно, показатель $p50_{реал}$ – на 24,5% ($p < 0,05$). Проявляется участие газотрансмиттеров в изменениях кислородсвязывающих свойств крови при воздействии O_3 при гипероксии. Гипероксия в условиях действия O_3 способствует росту содержания NO_3^-/NO_2^- и H_2S , а добавления нитроглицерина и $NaHS$ увеличивают эти показатели.

На фоне моделируемой гипероксии под действием O_3 наблюдается повышение содержания NO_3^-/NO_2^- и H_2S в плазме крови на 24,7% ($p < 0,05$) и 38,1% ($p < 0,05$) соответственно по сравнению с группой экспериментальных образцов, в которую вводили только O_3 . Внесение нитроглицерина в условиях гипероксии способствует росту концентраций NO_3^-/NO_2^- на 97,9% ($p < 0,05$) и H_2S на 59,9% ($p < 0,05$). Предварительная гипероксия существенно не изменяет показатели ПОЛ, а добавления нитроглицерина и $NaHS$ в данных условиях приводят к увеличению ДК, МДА и активности каталазы.

Предварительная гипоксия ослабляет влияние O_3 на кислородсвязывающие свойства крови, а внесение нитроглицерина препятствует проявлению данного эффекта. Гипоксия снижает эффект O_3 на показатели pO_2 и SO_2 в сравнении с группой экспериментальных образцов, в которой выполнялось только озонирование, при этом $p50_{реал}$ уменьшается на 14,57% ($p < 0,05$). Действие O_3 в гипоксических условиях приводит к росту содержания NO_3^-/NO_2^- и H_2S , а добавления нитроглицерина и $NaHS$ увеличивают данные показатели. Гипоксические условия под влиянием O_3 приводят к уменьшению показателей ПОЛ (МДА, ДК) и снижению транслокации ретинола и α -токоферола в плазму, в том числе в варианте воздействия нитроглицерином.

Предварительная обработка крови гипокапнической газовой смесью существенно увеличивает эффект O_3 на кислородсвязывающие свойства. Внесение нитроглицерина в этих условиях способствует усилению эффекта данного газа и характеризуется ростом pO_2 на 17,8% ($p < 0,05$), SO_2 – на 9,8% ($p < 0,05$), $p50_{реал}$ – на 3,2% ($p < 0,05$) в сравнении с группой экспериментальных образцов, которая подвергалась предварительной гипокапнии и обработке O_3 . Добавление нитроглицерина в этих условиях приводит к более выраженному усилению эффекта O_3 на кислородсвязывающие свойства крови, сопровождающегося ростом содержания NO_3^-/NO_2^- и H_2S . Натрия гидросульфид подобного действия на кислородсвязывающие свойства крови не оказывает,

несмотря на увеличение концентраций $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ и H_2S . Внесения NaHS и нитроглицерина в условиях гипокапнии способствуют росту $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ и H_2S .

Гиперкапния усиливает эффект O_3 на кислородсвязывающие свойства крови и характеризуется сдвигом КДО вправо, однако в заданных условиях добавления нитроглицерина и NaHS не изменяют параметров газотранспортной функции крови. NO и H_2S в определённых экспериментальных ситуациях могут обладать синергичным действием, но в опытах при гиперкапнии этого не наблюдается – отмечается рост содержания H_2S при отсутствии изменения активности L-аргинин- NO системы, а предварительная гиперкапния с добавлением O_3 приводит к росту уровня H_2S . Предварительная гиперкапния не устраняет воздействие O_3 на процессы ПОЛ, доноры газотрансмиттеров также не изменяют исследуемые параметры.

Таким образом, обработка экспериментальных образцов газовыми смесями с разными вариантами парциальных давлений O_2 и CO_2 приводит к усилению эффекта O_3 на показатели кислородсвязывающих свойств крови. На фоне высокой и низкой степени насыщения O_2 введение нитроглицерина способствует увеличению указанных показателей, потенцируя возможность развития нитроокислительного стресса, степень которого особенно возрастает в условиях гипероксии. Моделирование гипоксии способствует снижению данных параметров в сравнении с группой экспериментальных образцов, в которую добавляли только O_3 . Вместе с тем добавление доноров газотрансмиттеров NO и H_2S при гипероксии и гипоксии способствует повышению активности каталазы, увеличению $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ и H_2S в плазме крови. Обработка крови гипокапнической газовой смесью в условиях введения O_3 приводит к росту показателей кислородсвязывающих свойств крови. Добавление нитроглицерина усиливает данный эффект. Предварительная гиперкапния при введении O_3 также увеличивает показатели кислородсвязывающих свойств крови. Действие O_3 при различных значениях $p\text{CO}_2$ на фоне введения нитроглицерина и NaHS не оказывает существенного влияния на активность процессов свободнорадикального окисления липидов и показатели антиоксидантной системы. Доноры газотрансмиттеров при гипо/гиперкапнии способствуют повышению $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ и H_2S в плазме крови.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. Инкубация крови с озонированным физиологическим раствором в концентрациях 2, 6, 10 мг/л при экспозиции 30 и 60 мин обуславливает изменение кислородсвязывающих свойств крови, проявляющееся в росте $p\text{O}_2$, SO_2 и уменьшении сродства гемоглобина к кислороду, выраженность которых дозозависимо усиливается с увеличением концентрации озона.

Показатель $p50_{\text{реал}}$ при максимальной концентрации озона 10 мг/л и экспозиции 60 мин возрастает до 40,78 [38,34; 41,94] ($p < 0,05$) мм рт. ст. в сравнении с контролем 28,4 [27,3; 29,3] мм рт. ст. Действие озона приводит к увеличению содержания нитрат/нитритов и сероводорода, что отражает взаимосвязь системы газотрансммиттеров и ассоциируется с модификацией кислородсвязывающих свойств крови. В группе экспериментальных образцов с концентрацией озона 10 мг/л концентрация нитрат/нитритов увеличивается до 33,12 [30,07; 38,14] ($p < 0,05$) мкмоль/л в сравнении с контролем 17,05 [16,77; 18,72] мкмоль/л, уровень сероводорода увеличивается с 4,4 [3,5; 4,7] до 7,6 [7,1; 8,7] ($p < 0,05$) мкмоль/л. Воздействие озоном приводит к дозозависимому росту активности свободнорадикальных процессов крови, проявляющемуся увеличением уровня малонового диальдегида, диеновых конъюгатов, активности каталазы в эритроцитарной массе, содержания α -токоферола и ретинола в плазме крови [1–А, 2–А, 3–А, 11–А, 12–А, 15–А].

2. Внесение донора NO нитроглицерина усиливает эффект озона (в концентрации 6 мг/л) на кислородсвязывающие свойства крови: возрастают показатели pO_2 – на 24,47% ($p < 0,05$), SO_2 – на 14,2% ($p < 0,05$), $p50_{\text{реал}}$ – на 13,9% ($p < 0,05$). При использовании ингибитора фермента NO-синтазы L-NAME, L-аргинина и их комбинации подобный эффект не отмечается. При добавлении нитроглицерина концентрация нитрат/нитритов увеличивается на 183,5%, ($p < 0,05$), сероводорода – на 35,3% ($p < 0,05$), что отражает взаимосвязь газотрансммиттеров в модификации кислородсвязывающих свойств крови. В условиях увеличения концентрации нитрат/нитритов показатели активности перекисного окисления липидов (малоновый диальдегид и диеновые конъюгаты) существенно не изменяются. Добавление нитроглицерина и L-аргинина в присутствии озона приводит к повышению концентрации ретинола и α -токоферола в плазме крови [4–А, 11–А, 13–А, 14–А, 29–А].

3. Ингибитор синтеза сероводорода приводит к снижению эффекта озона (в концентрации 6 мг/л) на показатель сродства гемоглобина к кислороду: $p50_{\text{реал}}$ уменьшается на 13,6% ($p < 0,05$), соответственно, кривая диссоциации оксигемоглобина сдвигается влево, тогда как добавление натрия гидросульфид не изменяет воздействие этого фактора на данные параметры. Модуляция синтеза H_2S (применение как ингибитора, так и донора) не влияет на активность процессов перекисного окисления липидов при введении озона. Добавление пропаргилглицина в условиях действия озона снижает уровень нитрат/нитритов на 49,5% ($p < 0,05$), а натрия гидросульфид увеличивает их концентрацию. Натрия гидросульфид и нитроглицерин при совместном применении в образцах крови, подвергнутых воздействию озона, способствуют росту сероводорода в плазме крови на 114% ($p < 0,05$) [10–А, 11–А, 25–А, 27–А, 38–А, 39–А].

4. Инкубация суспензии эритроцитов с озонированным изотоническим раствором натрия хлорида приводит к росту показателей, характеризующих её кислородсвязывающие свойства, а именно, наблюдается увеличение параметра $p50_{\text{реал}}$ на 21,4% ($p < 0,05$) и, соответственно, сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина вправо, что отражает механизм действия озона на кровь, реализуемый непосредственно на уровне эритроцитарного компонента. Добавление нитроглицерина в данных условиях усиливает эффект озона, в то время как натрия гидросульфид подобного действия не оказывает. Озон вызывает в эритроцитарной суспензии рост концентраций диеновых конъюгатов и малонового диальдегида, а также снижение активности каталазы. Доноры газотрансмиттеров не усиливают проявление возникающего окислительного стресса, но активируют каталазу [9–А, 11–А, 22–А, 23–А, 24–А, 26–А].

5. При разных значениях парциального давления кислорода выявлены разнонаправленные эффекты озона и системы газотрансмиттеров на кислородсвязывающие свойства крови. Предварительная обработка крови газовой смесью с низким парциальным давлением кислорода уменьшает показатель $p50_{\text{реал}}$ на 14,6% ($p < 0,05$), а нитроглицерин препятствует проявлению данного эффекта, в то время как натрия гидросульфид подобного действия не оказывает. Инкубация крови в условиях высокого парциального давления кислорода усиливает влияние озона на её кислородсвязывающие свойства, отмечается рост SO_2 на 51,4% ($p < 0,05$), $p50_{\text{реал}}$ – на 30,14% ($p < 0,05$). Доноры сероводорода и монооксида азота увеличивают данный эффект, особенно нитроглицерин. Действие озона при различных парциальных давлениях кислорода активирует систему газотрансмиттеров. Озон в условиях низкого парциального давления кислорода уменьшает активность процессов перекисного окисления липидов, а также приводит к снижению концентраций ретинола и α -токоферола в плазме крови, в том числе в группе экспериментальных образцов с нитроглицерином, тогда как при высоком парциальном давлении кислорода выявлен рост показателей состояния прооксидантно-антиоксидантного баланса (диеновых конъюгатов, малонового диальдегида, активности каталазы) в группе экспериментальных образцов с нитроглицерином [5–А, 6–А, 11–А, 16–А, 17–А, 21–А, 34–А, 36–А, 37–А, 40–А].

6. В условиях низкого парциального давления углекислого газа эффект озона на кислородсвязывающие свойства крови существенно увеличивается, наблюдается сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина вправо. Воздействие нитроглицерином в этих условиях усиливает эффект озона на кислородсвязывающие свойства крови в меньшей степени: $p50_{\text{реал}}$ возрастает на 3,2% ($p < 0,05$), $p50_{\text{станд}}$ – на 3,3% ($p < 0,05$), и сопровождается ростом содержания нитрат/нитритов на 93,8% ($p < 0,05$) и сероводорода на 82,13% ($p < 0,05$).

Натрия гидросульфид подобного действия на кислородсвязывающие свойства крови не оказывает. Эффект озона на кислородсвязывающие свойства крови усиливается и в условиях высокого парциального давления углекислого газа, тогда как добавление нитроглицерина и натрия гидросульфида не вызывает значимых изменений. Действие озона при высоком парциальном давлении углекислого газа приводит к усилению синтеза сероводорода на 59,2% ($p < 0,05$), внесение нитроглицерина и натрия гидросульфида увеличивают концентрации нитрат/нитритов на 98,5% ($p < 0,05$) и 40,7% ($p < 0,05$) и сероводорода на 25,9% ($p < 0,05$) и 38,3% ($p < 0,05$) соответственно. Озон при разных значениях парциальных давлений углекислого газа и при добавлении используемых доноров газотрансмиттеров, существенно не влияет на показатели прооксидантно-антиоксидантного баланса крови [7–А, 8–А, 11–А, 18–А, 19–А, 20–А, 28–А, 30–А, 31–А, 32–А, 33–А, 34–А, 35–А, 36–А].

Рекомендации по практическому использованию результатов

Выявленные изменения кислородсвязывающих свойств крови, параметров прооксидантно-антиоксидантного баланса под влиянием озона, а также в условиях модуляции системы газотрансмиттеров (монооксид азота, сероводород), разных значений парциального давления кислорода и углекислого газа обосновывают новые механизмы стабилизации и коррекции аффинитета гемоглобина к кислороду. Установленные закономерности могут быть использованы в качестве фундаментальной основы для разработки новых способов повышения адаптационных ресурсов эритроцитарного звена.

Результаты проведенного исследования внедрены в научный и учебный процесс кафедр нормальной физиологии УО «Гродненский государственный медицинский университет», «Белорусский государственный медицинский университет», «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», «Гомельский государственный медицинский университет»; ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет имени Н. Н. Бурденко», «Смоленский государственный медицинский университет», «Казанский государственный медицинский университет», «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова», а также в Ярославском государственном педагогическом университете имени К. Д. Ушинского и в Университете традиционной медицины (Республика Армения) [приложение А].

На основании результатов представленной диссертационной работы получен патент Республики Беларусь на изобретение «Способ снижения сродства гемоглобина к кислороду», выданный Национальным центром интеллектуальной собственности (от 28.02.2023 № 23975) [40–А, приложение Б], 6 удостоверений на рационализаторские предложения [приложение В].

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ УЧЁНОЙ СТЕПЕНИ

Публикации, соответствующие пункту 19 Положения о присуждении учёных степеней и присвоении учёных званий

1–А. Зинчук, В. В. Эффект озона на прооксидантно-антиоксидантный баланс крови в опытах *in vitro* / В. В. Зинчук, Е. С. Билецкая, И. Э. Гуляй // Новости медико-биологических наук. – 2018. – Т. 17, № 2. – С. 40–44.

2–А. Зинчук, В. В. Кислородзависимые механизмы физиологического действия озона / В. В. Зинчук, Е. С. Билецкая // Журнал медико-биологических исследований. – 2019. – Т. 7, № 2. – С. 216–227.

3–А. Зинчук, В. В. Эффект озона на кислородтранспортную функцию крови при различных режимах воздействия в опытах *in vitro* / В. В. Зинчук, Е. С. Билецкая // Биофизика. – 2020. – Т. 65, № 5. – С. 915–919.

4–А. Зинчук, В. В. Эффект озона на кислородтранспортную функцию и прооксидантно-антиоксидантный баланс крови в условиях воздействия на NO-генерирующую систему в опытах *in vitro* / В. В. Зинчук, Е. С. Билецкая, И. Э. Гуляй // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. – 2021. – Т. 107, № 1. – С. 16–27.

5–А. Вклад газотрансмиттеров (NO, H₂S) в эффект озона на кислородзависимые процессы крови в условиях оксигенации / Е. С. Билецкая, В. В. Зинчук, А. В. Муравьев, И. Э. Гуляй, К. М. Дорохин // Новости медико-биологических наук. – 2021. – Т. 21, № 2. – С. 18–24.

6–А. Зинчук, В. В. Особенности влияния озона на кислородзависимые процессы крови при гипоксических условиях / В. В. Зинчук, Е. С. Билецкая // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2021. – Т. 20, № 3. – С. 70–76.

7–А. Зинчук, В. В. Особенности действия озона на кислородзависимые процессы крови в условиях гиперкапнии / В. В. Зинчук, Е. С. Билецкая, И. Э. Гуляй // Биомедицинская химия. – 2022. – Т. 68, № 3. – С. 212–217.

8–А. Влияние газотрансмиттеров и озона на микрореологию эритроцитов и кислородтранспортную функцию крови / В. В. Зинчук, А. В. Муравьев, Е. С. Билецкая, П. В. Михайлов, И. А. Тихомирова, Р. С. Остроумов, А. В. Замышляев // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2022. – № 2. – С. 73–83.

9–А. Zinchuk, V. Effect of ozone on oxygen transport and pro-oxidant-antioxidant balance of red blood cell suspension / V. Zinchuk, E. Biletskaya // Acta Chimica Slovenica. – 2023. – Vol. 70, № 2. – P. 226–230.

10–А. Зинчук, В. В. Влияние озона на кислородсвязывающие свойства крови и ее прооксидантно-антиоксидантный баланс в условиях воздействия на H₂S-генерирующую систему / В. В. Зинчук, Е. С. Билецкая // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. – 2023. – Т. 109, № 6. – С. 760–770.

11–А. Билецкая, Е. С. Роль озона в адаптивных изменениях эритроцитарного звена / Е. С. Билецкая, В. В. Зинчук // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2023. – Т. 21, № 5. – С. 443–452.

Статьи в сборниках научных трудов и материалах конференций

12–А. Билецкая, Е. С. Озон, как фактор, изменяющий кислородзависимые процессы крови в опытах *in vitro* [Электронный ресурс] / Е. С. Билецкая, И. Э. Гуляй, В. В. Зинчук // Актуальные проблемы медицины : материалы ежегодн. итог. науч.-практ. конф., Гродно, 25 янв. 2019 г. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь ; Гродн. гос. мед. ун-т ; редкол.: В. А. Снежицкий (отв. ред.) [и др.]. – Гродно, 2019. – С. 58–61. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM).

13–А. Билецкая, Е. С. Изменение кислородтранспортной функции крови в условиях коррекции L-аргинин-NO системы при действии озона [Электронный ресурс] / Е. С. Билецкая, И. Э. Гуляй // Актуальные вопросы физиологии : сб. материалов науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 60-летию каф. нормальной физиологии ГрГМУ, Гродно, 23 мая 2019 г. / Гродн. гос. мед. ун-т ; редкол.: В. В. Зинчук (отв. ред.) [и др.]. – Гродно, 2019. – С. 55–57. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM).

14–А. Влияние озона на концентрацию сероводорода и монооксида азота в плазме крови в опытах *in vitro* в условиях изменения активности L-аргинин-NO системы [Электронный ресурс] / Е. С. Билецкая, Е. Р. Богданович, И. Э. Гуляй, В. В. Зинчук, Р. В. Рыбаков // Актуальные проблемы медицины : сб. материалов итог. науч.-практ. конф., Гродно, 24 янв. 2020 г. / отв. ред. В. А. Снежицкий. – Гродно, 2020. – С. 65–67. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM).

15–А. Участие озона в регуляции функционирования системы крови / Е. С. Билецкая, В. В. Зинчук, Д. В. Муравьёв, И. Э. Гуляй, Е. Р. Богданович, И. С. Трусова // Биохимия и молекулярная биология : сб. ст., посвящ. 95-летию основателя Института биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси акад. Ю. М. Островского, Гродно, 20 нояб. 2020 г. / редкол.: И. Н. Семененя (гл. ред.) [и др.]. – Гродно, 2020. – Вып. 4. – С. 54–57.

16–А. Билецкая, Е. С. Влияние озона на содержание газотрансмиттеров в различных условиях кислородного обеспечения [Электронный ресурс] / Е. С. Билецкая, В. В. Зинчук, И. Э. Гуляй // Актуальные проблемы медицины : сб. материалов итог. науч.-практ. конф., Гродно, 28-29 янв. 2021 г. / отв. ред. Е. Н. Кроткова. – Гродно, 2021. – С. 89–91. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM).

17–А. Билецкая, Е. С. Участие газотрансмиттеров (NO, H₂S) в механизмах действия озона на транспорт кислорода кровью в гипероксических условиях / Е. С. Билецкая, В. В. Зинчук, И. Э. Гуляй // Роль микроциркуляции и микроциркуляции при разных вариантах обеспечения организма кислородом :

сб. материалов междунар. симпозиума, Ярославль, 4 марта 2021 г. / под ред. А. В. Муравьева. – Ярославль : Гродно, 2021. – С. 24–28.

18–А. Билецкая, Е. С. Изменение кислородтранспортной функции крови под влиянием озона в гипокапнических условиях / Е. С. Билецкая, В. В. Зинчук // Актуальные проблемы биохимии : сб. материалов науч.-практ. конф. с междунар. участием, Гродно, 28 мая 2021 г. / редкол.: В. В. Лелевич, А. Г. Виницкая, И. О. Леднева. – Гродно, 2021. – С. 92–94.

19–А. Зинчук, В. В. Изменение сродства гемоглобина к кислороду под воздействием озона при гиперкапнемии [Электронный ресурс] / В. В. Зинчук, Е. С. Билецкая // Современные проблемы медицинской биохимии : сб. материалов Междунар. науч. конф., посвящ. 85-летию со дня рождения профессора В. К. Кухты, Минск, 25 янв. 2022 г. / Белорус. гос. мед. ун-т ; Каф. биол. химии ; под ред. А. Д. Тагановича, Н. Н. Ковганко, В. В. Хрусталева. – Минск, 2022. – С. 89–92. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM).

20–А. Билецкая, Е. С. Особенности действия озона на содержание газотрансмиттеров при различных парциальных давлениях углекислого газа [Электронный ресурс] / Е. С. Билецкая, В. В. Зинчук, И. Э. Гуляй // Актуальные проблемы медицины : сб. материалов итог. науч.-практ. конф., Гродно, 27 янв. 2022 г. / отв. ред. С. Б. Вольф. – Гродно, 2022. – С. 27–29.

21–А. Роль озона в механизмах транспорта кислорода в разных условиях кислородного обеспечения [Электронный ресурс] / Е. С. Билецкая, В. В. Зинчук, И. Э. Гуляй, А. А. Володина // Сборник материалов Республиканской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 85-летию со дня рождения профессора Борисюка Михаила Владимировича, Гродно, 17 февр. 2022 г. / редкол.: В. В. Воробьев, В. В. Зинчук, В. Н. Хильманович. – Гродно, 2022. – С. 37–40. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM).

22–А. Билецкая, Е. С. Особенности эритроцитарного ответа на действие озона / Е. С. Билецкая, В. В. Зинчук, А. В. Муравьев // Микроциркуляция, реология крови и кислородный гомеостаз : Междунар. интернет-симпозиум в рамках ежегод. науч.-практ. конф. Ярослав. гос. педагог. ун-та им. К. Д. Ушинского «Чтения Ушинского» : сб. материалов междунар. интернет-симпозиума, Ярославль : Гродно, 10 марта 2022 г. / под ред. А. В. Муравьева, В. В. Зинчука. – Ярославль ; Гродно, 2022. – С. 31–36.

23–А. Билецкая, Е. С. Окислительный стресс в эритроцитах индуцированный озоном [Электронный ресурс] / Е. С. Билецкая, С. Я. Шалесная, А. А. Володина // Кислород и свободные радикалы : сб. материалов науч.-практ. конф. с междунар. участием., Гродно, 26-27 мая 2022 г. / редкол.: И. Г. Жук, С. Б. Вольф, В. В. Зинчук. – Гродно, 2022. – С. 12–14. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM).

24–А. Зинчук, В. В. Озон и внутриэритроцитарные механизмы регуляции кислородтранспортной функции крови / В. В. Зинчук, Е. С. Билецкая // Современные проблемы системной регуляции физиологических функций : сб. материалов VI Междисциплин. конф. с междунар. участием, посвящ. 90-летию со дня рождения акад. К. В. Судакова, Москва, 6-8 июля 2022. – Москва, 2022. – С. 208–211.

25–А. Билецкая, Е. С. Значение цистеин/цистин системы в реализации эффектов озона / Е. С. Билецкая, В. В. Зинчук, А. А. Володина // От молекулы к системной организации физиологических функций : материалы науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 90-летию со дня рождения членкор. РАМН, проф. А. В. Завьялова, Курск, 18-20 апр. 2023 г. – Курск, 2023. – С. 74–76.

26–А. Билецкая, Е. С. Эритроциты и адаптивные процессы при действии озона: вклад газотрансмиттеров / Е. С. Билецкая, В. В. Зинчук, А. А. Володина // Агаджаньяновские чтения : материалы IV Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием, Москва, 25-27 мая 2023 г. / редкол.: В. И. Торшин, А. Е. Северин. – Москва, 2023. – С. 44–47.

27–А. Зинчук, В. В. Система газотрансмиттеров как фармакологическая мишень коррекции прооксидантно-антиоксидантного дисбаланса [Электронный ресурс] / В. В. Зинчук, Е. С. Билецкая // Актуальные вопросы фармакологии и фармакотерапии : сб. материалов науч.-практ. конф., посвящ. 100-летию со дня рожд. проф. М. В. Кораблёва, Гродно, 24 янв. 2023 г. / редкол.: С. Б. Вольф (отв. ред.) [и др.]. – Гродно, 2023. – С. 71–74. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM).

28–А. Билецкая, Е. С. Особенности действия озона на кровь при различных парциальных давлениях кислорода и углекислого газа [Электронный ресурс] / Е. С. Билецкая, В. В. Зинчук, А. А. Володина // Актуальные проблемы общей и клинической биохимии – 2023 : материалы респ. науч.-практ. конф., Гродно, 26 мая 2023 г. / редкол.: В. В. Лелевич (отв. ред.) [и др.]. – Гродно, 2023. – С. 37–44. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM).

Тезисы докладов

29–А. Билецкая, Е. С. Газотрансмиттер сероводород и средство гемоглобина к кислороду в условиях изменения активности L-аргинин-NO системы при воздействии озоном / Е. С. Билецкая, Е. Р. Богданович, И. С. Трусова, Р. В. Рыбаков // Студенческая наука – 2020 : всероссийский науч. форум студентов с межд. уч., научно-практический журнал для студентов и молодых ученых (спецвыпуск), Санкт-Петербург, 2020 г. : тез. докл. / Санкт-Петербургский гос. педиатр. мед. ун-т; редкол.: Д. О. Иванов (гл. ред.) [и др.]. – Санкт-Петербург, 2020. – Т. 3. – С. 848–849.

30–А. Билецкая, Е. С. Влияние озона на сродство гемоглобина к кислороду в условиях гипоксии и модуляции системы газотрансмиттеров / Е. С. Билецкая, Chalaki Mahfam, В. В. Зинчук // Физико-химическая биология как основа современной медицины : межд. научн. конф., посвященной 75-летию со дня рождения профессора Е. В. Барковского, Минск, 21 мая 2021 г. : тез. докл. / Белорусский гос. мед. ун-т; редкол.: В. В. Хрусталёв, А. Д. Таганович, Т. А. Хрусталёва. – Минск, 2021. – С. 37–38.

31–А. Zinchuk, V. Contribution of gaseous transmitters to the ozone effect on blood oxygen transport function under hypocapnic conditions / V. Zinchuk, E. Biletskaya, A. Muravyov // Journal of physiology and pharmacology. –2021. – Vol. 72, Suppl. 1 [28th Congress of the polish physiological society, Gdansk, Poland, Sept. 15-17, 2021 (online)]. – P. 94.

32–А. Билецкая, Е. С. Особенности влияния озона на кислородтранспортную функцию крови при различных вариантах насыщения крови углекислым газом / Е. С. Билецкая, В. В. Зинчук, В. М. Яколевич // Новости медико-биологических. – 2021. – Т. 21, № 3 [Фундаментальные и прикладные науки - медицине : тр. междунар. науч. конф., Минск, 8 окт. 2021 г.]. – С. 16–17.

33–А. Зинчук, В. В. Эффект озона на кислородтранспортную функцию крови в гиперкапнических условиях / В. В. Зинчук, Е. С. Билецкая // Интегративная физиология : тез. докл. Всерос. конф. с междунар. участием, Санкт-Петербург, 8-10 дек. 2021 г. / Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН. – СПб, 2021. – С. 151–152.

34–А. Зинчук, В. В. Озон и система крови / В. В. Зинчук, Е. С. Билецкая // Новости медико-биологических наук. – 2022. – Т. 22, № 1 [Сигнальные механизмы регуляции физиологических функций : тр. IV Респ. науч. конф., Минск, 23-24 марта 2022 г.]. – С. 43–44.

35–А. Зинчук, В. В. Механизмы вклада озона в усиление адаптационного потенциала организма / В. В. Зинчук, Е. С. Билецкая // Эколого-физиологические проблемы адаптации : материалы XIX симпозиума с междунар. участием, Казань, 1–3 июля 2022 г. – Москва, 2022. – С. 87–88.

36–А. Зинчук, В. В. Механизмы вклада озона в физиологические процессы адаптации / В. В. Зинчук, Е. С. Билецкая, А. А. Володина // Интегративная физиология : тез. докл. Всерос. конф. с междунар. участием, Санкт-Петербург, 7–9 дек. 2022 г. – СПб., 2022. – С. 170.

37–А. Зинчук, В. В. Вклад озона и газовых мессенджеров в адаптивные процессы при гипоксии / В. В. Зинчук, Е. С. Билецкая, А. А. Володина // XXIV съезд физиологического общества им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, 11–15 сент. 2023 г. : сб. тез. докл. / Рос. физиол. о-во им. И. П. Павлова ; редкол.: М. Л. Фирсов (отв. ред.) [и др.]. – СПб, 2023. – С. 582.

38–А. Билецкая, Е. С. Эффект ингибирования синтеза сероводорода / Е. С. Билецкая, А. А. Володина // ВолгаМед : сб. тез. IX Всерос. науч.-практ. конф. молодых ученых и студентов с междунар. участием, Нижний Новгород, 15–17 марта 2023 г. / Приволж. исслед. мед. ун-т ; редкол.: Е. Д. Божкова (отв. ред.) [и др.]. – Н-Новгород, 2023. – С. 94–95.

39–А. Билецкая, Е. С. Проблема окислительного стресса и возможности его коррекции [Электронный ресурс] / Е. С. Билецкая, В. В. Зинчук, М. Э. Фираго // Медицинский университет: современные взгляды и новые подходы : сб. материалов Респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 65-летию Гродн. гос. мед. ун-та, Гродно, 28-29 сент. 2023 г. / редкол.: И. Г. Жук (отв. ред.) [и др.]. – Гродно, 2023. – С. 69–70.

Патент

40–А. Способ снижения сродства гемоглобина к кислороду : пат. 23975 Респ. Беларусь, МПК G 09В 23/28 (2006.01) / В. В. Зинчук, Е. С. Билецкая. – Оpubл. 28.02.23.

РЭЗІЮМЭ

Білецкая Алена Сцяпанаўна

Кіслародзвязвальныя ўласцівасці крыві ва ўмовах уплыву азону і механізмы іх фарміравання

Ключавыя словы: азон, кроў, кісларод, вуглякіслы газ, газатрансмітар, монааксід азоту, серавадарод

Мэта даследавання: выявіць асаблівасці кіслародзвязальных уласцівасцяў крыві ва ўмовах уплыву азону і механізмы іх фарміравання ў вопытах *in vitro*.

Аб'ект даследавання: вянозная кроў (плазма і эрытрацытарная маса) белых пацукоў-самцоў лініі Вістар.

Метады даследавання: фізіялагічныя, палярыметрычныя, спектрафотаметрычныя, статыстычныя.

Атрыманыя вынікі і іх навізна: устаноўлена, што інкубацыя крыві з азанаваным ізатанічным растварам натрыю хларыду у дыяпазоне канцэнтрацый ад 2 да 10 мг/л пры экспазіцыі 30 і 60 хвілін дозалежна памяншае срадства гемаглабіну да кіслароду, павышае ўзроўні нітрат/нітрытаў і серавадароду. Выяўлена, што газатрансмітары монааксід азоту і серавадарод мадулююць эффект азону на кіслародзалежныя працэсы крыві. Інкубацыі крыві з азанаваным ізатанічным растварам натрыю хларыду ў прысутнасці нітрагліцэрыну ўзмацняе ўплыў дадзенага газу на кіслародзвязвальныя ўласцівасці крыві, а інгібітар сінтэзу серавадароду прапаргілгліцын памяншае яго. Вуглякіслы газ як пры паніжаным, так і пры павышаным парцыяльным ціску ўзмацняе эффект азону на кіслародзвязвальныя ўласцівасці крыві, тады як падобны вынік назіраецца толькі пры павышаным парцыяльным ціску кіслароду. Донары газатрансмітараў нітрагліцэрын і гідрасульфід натрыю ўдзельнічаюць у мадыфікацыі дадзенага ефекту.

Рэкамендацыі па выкарыстанні: выяўленыя асноўныя механізмы змены кіслародзвязальных уласцівасцяў крыві, параметраў прааксідантна-антыаксідантнага балансу пад уплывам азону ва ўмовах мадуляцыі сістэмы газатрансмітараў і розных парцыяльных цісках кіслароду і вуглякіслага газу, абгрунтоўваюць новыя шляхі павышэння адаптацыйных рэсурсаў эрытрацытарнага зв'язна.

Галіна прымянення: нармальнае і паталагічнае фізіялогія, біяхімія, медыцынская рэабілітацыя.

РЕЗЮМЕ

Билецкая Елена Степановна

Кислородсвязывающие свойства крови в условиях влияния озона и механизмы их формирования

Ключевые слова: озон, кровь, кислород, углекислый газ, газотрансмиттер, монооксид азота, сероводород

Цель исследования: выявить особенности кислородсвязывающих свойств крови в условиях влияния озона и механизмы их формирования в опытах *in vitro*.

Объект исследования: венозная кровь (плазма и эритроцитарная масса) белых крыс-самцов линии Вистар.

Методы исследования: физиологические, поляриметрические, спектрофотометрические, статистические.

Полученные результаты и их новизна: установлено, что инкубация крови с озонированным изотоническим раствором натрия хлорида в диапазоне концентраций от 2 до 10 мг/л при экспозиции 30 и 60 минут дозозависимо уменьшает сродство гемоглобина к кислороду, повышает уровни нитрат/нитритов и сероводорода. Выявлено, что газотрансмиттеры монооксид азота и сероводород модулируют эффект озона на кислородзависимые процессы крови. Инкубация крови с озонированным изотоническим раствором натрия хлорида в присутствии нитроглицерина усиливает влияние данного газа на кислородсвязывающие свойства крови, а ингибитор синтеза сероводорода пропаргилглицин уменьшает его. Углекислый газ как при пониженном, так и при повышенном парциальном давлении усиливает эффект озона на кислородсвязывающие свойства крови, тогда как подобный результат наблюдается только при повышенном парциальном давлении кислорода. Доноры газотрансмиттеров нитроглицерин и натрия гидросульфид участвуют в модификации данного эффекта.

Рекомендации по использованию: выявленные основные механизмы изменения кислородсвязывающих свойств крови, параметров прооксидантно-антиоксидантного баланса под влиянием озона в условиях модуляции системы газотрансмиттеров и различных парциальных давлениях кислорода и углекислого газа обосновывают новые пути повышения адаптационных ресурсов эритроцитарного звена.

Область применения: нормальная и патологическая физиология, биохимия, медицинская реабилитация.

SUMMARY

Biletskaya Elena

Oxygen-binding capacities of the blood under the action of ozone and mechanisms of their formation

Key words: ozone, the blood, molecular oxygen, carbon dioxide, gasotransmitter, nitrogen monoxide, hydrogen sulfide

Aim of the research: identify the peculiarities of the blood oxygen-binding capacities under the ozone action and the mechanisms of their formation *in vitro* experiments.

Object of study: venous blood (plasma and erythrocyte mass) of white male Wistar rats.

Research methods: physiological, polarometric, spectrophotometric, statistical.

The results and their novelty: It has been shown that incubation of the blood with ozonated isotonic sodium chloride solution in the doses 2 to 10 mg/l for 30 to 60 minutes decreases the affinity of hemoglobin to oxygen in a dose-dependent manner, and increases the levels of nitrates/nitrites and hydrogen sulfide. The gasotransmitters nitrogen monoxide and hydrogen sulfide modulate the effect of ozone on the oxygen-dependent processes in the blood.

Incubation of blood with ozonated isotonic sodium chloride solution in presence of nitroglycerin enhances its action on the oxygen-binding capacity of the blood, and propargylglycine, the inhibitor of hydrogen sulfide synthesis, reduces this effect.

Carbon dioxide facilitates the influence of ozone on the oxygen-binding capacities of the blood both at its reduced and increased partial pressure, whereas oxygen acts in a similar way only at its increased partial pressure. Nitroglycerin and sodium hydrosulfide as the donors of gasotransmitters modulate that effect.

Recommendations for use: the changes observed in the blood oxygen-binding capacity, pro-oxidant and antioxidant system under the action of ozone, and modulation of the gasotransmitter system by different partial pressures of oxygen and carbon dioxide, might be useful for development of new methods for increasing the adaptive resources of the erythrocyte.

Field of application: normal and pathological physiology, biochemistry, medical rehabilitation.

Научное издание

Билецкая Елена Степановна

**КИСЛОРОДСВЯЗЫВАЮЩИЕ СВОЙСТВА КРОВИ
В УСЛОВИЯХ ВЛИЯНИЯ ОЗОНА
И МЕХАНИЗМЫ ИХ ФОРМИРОВАНИЯ**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

по специальности 03.03.01 – физиология

Подписано в печать 20.08.2024.
Формат 60x84/16. Бумага офсетная.
Гарнитура Таймс. Цифровая печать.
Усл.-печ. л. 1,63. Уч.-изд. л. 1,52. Тираж 60 экз. Заказ 125.

Издатель и полиграфическое исполнение
учреждение образования
«Гродненский государственный медицинский университет».
ЛП № 02330/445 от 18.12.2013. Ул. Горького, 80, 230009, г. Гродно.