

---

---

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

---

---

**ЭФФЕКТ ОЗОНА НА КИСЛОРОДТРАНСПОРТНУЮ ФУНКЦИЮ КРОВИ  
И СОДЕРЖАНИЕ ГАЗОТРАНСМИТТЕРОВ (МОНООКСИД АЗОТА  
И СЕРОВОДОРОДА) У КРЫС**

© 2025 г. В. В. Зинчук<sup>1,\*</sup>, М. А. Меленец<sup>1</sup>, И. Э. Гуляй<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

\*E-mail: zinchuk@grsmu.by

Поступила в редакцию 12.05.2025 г.

После доработки 17.06.2025 г.

Принята к публикации 23.06.2025 г.

Озонотерапия является высокоэффективным методом реабилитации организма при различных патологиях, эффекты которой могут быть связаны с ее влиянием на механизмы транспорта кислорода крови. Цель данной работы – исследование влияния озона в различных концентрациях на кислородтранспортную функцию крови, содержание 2,3-дифосфоглицерата и аденозинтрифосфата, систему газотрансмиттеров (монооксид азота и сероводорода) у крыс. Эксперимент выполнен на белых беспородных крысах-самцах ( $n = 56$ ), которых разделили на 4 группы: контрольная, получавшая внутривенно 1.0 мл 0.9%-ного раствора NaCl в течение 10 суток, и 3 опытных, которым на протяжении 10 суток осуществлялось введение 0.9%-ного раствора NaCl с концентрацией озона 1, 10 и 100 мкг/кг массы животного соответственно. Определяли показатели кислородтранспортной функции крови, содержание 2,3-дифосфоглицерата и аденозинтрифосфата, нитрат/нитритов и сероводорода. У животных, которые получали озон в концентрации 10 мкг/кг, наблюдалось увеличение  $PO_2$ ,  $SO_2$ ,  $P50_{\text{реал}}$ , 2,3-дифосфоглицерата, аденозинтрифосфата и газотрансмиттеров (монооксид азота и сероводорода) в сравнении с контролем. При использовании озона в минимальных и максимальных концентрациях изменения показателей кислородсвязывающих свойств крови не отмечались. Выявленный эффект озона (в дозе 10 мкг/кг) на кислородтранспортную функцию крови крыс, проявляющийся в уменьшении сродства гемоглобина к кислороду, реализуется через увеличение монооксида азота и сероводорода, способствующих росту таких модуляторов, как 2,3-дифосфоглицерат и аденозинтрифосфат.

*Ключевые слова:* озон, кровь, кислород, газотрансмиттер, монооксид азота, сероводород, 2,3-дифосфоглицерат

**DOI:** 10.7868/S2658655X25090011

## ВВЕДЕНИЕ

Озонотерапия является развивающимся и довольно высокоэффективным методом реабилитации организма при различных патологиях. Концентрации озона, применяемые с терапевтической целью, значительно ниже тех, которые способны вызвать развитие повреждающих процессов [1], и в этом случае данный газ способен оказывать

антигипоксический, противовоспалительный, противовирусный, обезболивающий и другие эффекты [2]. Большой интерес вызывает влияние данного фактора на систему крови. Благодаря большей, чем у кислорода, окислительной активности озон активизирует процессы метаболизма, образует соединения, содержащие активные формы кислорода и более длительно циркулирующие в крови озониды, что поддерживает интенсивность окислительно-восстановительных процессов непосредственно в крови [3]. Улучшение оксигенации тканей, вызванное озоном, происходит за счет увеличения концентрации оксигемоглобина и стимуляции гликолиза [2]. Введение кислородно-озоновой смеси в концентрациях около 30 мкг/мл приводит к увеличению содержания 2,3-дифосфолицерата (2,3-ДФГ) в эритроцитах, что может влиять на насыщение крови кислородом [4].

Ранее в опытах *in vitro* было показано, что озон увеличивает парциальное давление кислорода ( $PO_2$ ), степень оксигенации ( $SO_2$ ) и уменьшает сродство гемоглобина к кислороду (СГК), выраженность которых усиливается с увеличением концентрации этого фактора и обусловлена ростом содержания таких газотрансмиттеров, как монооксид азота (NO) и сероводород ( $H_2S$ ) [5]. В связи с этим можно предположить, что данный фактор может оказывать влияние на механизмы транспорта кислорода кровью и в условиях воздействия в целом на организм.

Исходя из вышеизложенного, целью настоящей работы является исследование влияния озона в различных концентрациях на кислородтранспортную функцию (КТФ) крови, содержание 2,3-ДФГ и аденозинтрифосфата (АТФ), систему газотрансмиттеров (монооксида азота и сероводорода) у крыс.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты были выполнены на белых беспородных крысах-самцах массой тела 250–300 г. Животные ( $n = 56$ ) содержались в условиях университетского вивария при свободном доступе к воде и пище, искусственном освещении, стандартизации температурного режима (20–22 °С) и искусственной вентиляции помещения. В условиях адекватного наркоза (50 мг/кг тиопентала натрия) проводили забор смешанной венозной крови из правого предсердия в предварительно подготовленный шприц с гепарином натрия из расчета 50 ЕД на 1 мл крови. Исследования были проведены на 4 группах животных: контрольной ( $n = 14$ ), которой внутрибрюшинно в течение 10 суток (пятикратно) вводили по 1.0 мл 0.9%-ного раствора NaCl, и 3 опытных ( $n = 42$ , по 14 животных в каждой группе), которым на протяжении 10 суток (пятикратно) осуществляли введение озонированного 0.9%-ного раствора NaCl с концентрацией озона 1, 10 и 100 мкг/кг массы животного соответственно. Раствор с заданной концентрацией озона получали путем его барбатирования при скорости потока 1 л/мин с помощью озонотерапевтической установки УОТА-60-01 (ООО “Медозон”, Россия), в которой осуществляется измерение концентрации данного фактора оптическим методом в ультрафиолетовом диапазоне.

Измерение показателей КТФ крови и кислотно-основного состояния крови осуществляли при температуре 37 °С с помощью газоанализатора Stat Profile pHox plus L (“Nova Biomedical”, США):  $PO_2$  и  $PCO_2$ ,  $SO_2$ , стандартный бикарбонат (SBC), реальный/стандартный недостаток (избыток) буферных оснований (ABE/SBE), гидрокарбонат ( $HCO_3^-$ ), концентрация водородных ионов (pH), общая углекислота плазмы крови ( $TCO_2$ ). Измеряли СГК по показателю  $P_{50}$  ( $PO_2$  крови при 50%-ном насыщении ее кислородом), определяемому спектрофотометрическим методом при температуре 37 °С, pH = 7.4 и  $PCO_2 = 40$  мм рт. ст. ( $P_{50\text{станд}}$ ). Затем рассчитывался  $P_{50}$  при реальных значениях pH,  $PCO_2$  и температуры ( $P_{50\text{реал}}$ ) [6]. Положение кривой диссоциации оксигемоглобина (КДО) рассчитывали по полученным значениям  $P_{50}$ , используя уравнение Хилла.

Содержание 2,3-ДФГ и АТФ в суспензии отмытых эритроцитов исследовали не-энзиматическим методом, определяя концентрацию неорганического фосфора в гемолизатах эритроцитов [7]. Содержание NO в плазме крови оценивали спектрофотометрическим методом с реактивом Грисса по суммарному уровню нитратов/нитритов ( $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ ):  $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^- = \text{NO}_x$  [8]. Интенсивность окраски определяли на спектрофотометре PV1251C (ЗАО “СОЛАР”, Беларусь) при длине волны 540 нм. Уровень эндогенного  $\text{H}_2\text{S}$  в плазме крови определяли спектрофотометрическим методом, основанном на реакции между сульфид-анионом и раствором N,N-диметил-парафенилендиамина солянокислого в присутствии хлорного железа; измерения проводили при длине волны 670 нм на спектрофотометре PV1251C (ЗАО “СОЛАР”, Беларусь) [9].

Все показатели проверяли на соответствие признака закону нормального распределения с использованием критерия Шапиро – Уилка. С учетом этого были использованы методы непараметрической статистики с применением программы Statistica 10.0 (S/N AXAR207F394425FA-Q, StatSoft, США). Сравнение трех и более независимых групп проводили с помощью рангового дисперсионного анализа Краскела – Уоллиса. Достоверность полученных данных оценивали с использованием U-критерия Манна – Уитни. Результаты представлены как медиана (Me), 25-й и 75-й процентиля. Величина  $p$  рассчитана с учетом поправки Бонферрони. Критический уровень значимости принимали  $p < 0.05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Данные о характере изменения КТФ крови при введении растворов с разной концентрацией озона представлены в табл. 1. При минимальных (1 мкг/кг) и максимальных (100 мкг/кг) концентрациях озона не отмечалось существенных изменений данных показателей. У животных, которые получали озон с концентрацией 10 мкг/кг, наблюдалось увеличение  $\text{PO}_2$  на 23.9% ( $p < 0.001$ ),  $\text{SO}_2$  – на 9.2% ( $p < 0.001$ ) в сравнении с контролем. Параметр  $\text{P}_{50\text{реал}}$ , отражающий СГК, увеличивался на 18.6% ( $p < 0.001$ ), что соответствует сдвигу КДО вправо (рис. 1).

**Таблица 1.** Влияние озона разной концентрации на кислородтранспортную функцию крови

| Показатель                               | Контроль                | Озон                    |                         |                         |
|------------------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
|                                          |                         | 1 мкг/кг                | 10 мкг/кг               | 100 мкг/кг              |
| <i>n</i>                                 | 14                      | 14                      | 14                      | 14                      |
| $\text{P}_{50\text{реал}}$ , мм рт. ст.  | 29.6<br>[29.2; 31.3]    | 30.9<br>[30.4; 32.0]    | 35.1<br>[34.7; 35.3]*#  | 29.0<br>[27.0; 30.3]#ψ  |
| $\text{P}_{50\text{станд}}$ , мм рт. ст. | 31.7<br>[30.8; 32.3]    | 32.5<br>[31.8; 33.9]    | 36.3<br>[35.6; 37.2]*#  | 29.4<br>[27.7; 31.7]#ψ  |
| $\text{PO}_2$ , мм рт.ст.                | 23.0<br>[22.0; 24.7]    | 24.2<br>[23.7; 24.8]    | 28.5<br>[27.5; 29.9]*#  | 22.4<br>[21.2; 23.2]ψ   |
| $\text{SO}_2$ , %                        | 33.8<br>[31.7; 35.2]    | 33.3<br>[31.1; 34.7]    | 36.9<br>[35.6; 38.9]*#  | 33.1<br>[29.0; 35.4]ψ   |
| pH, ед.                                  | 7.453<br>[7.442; 7.471] | 7.456<br>[7.404; 7.478] | 7.448<br>[7.428; 7.469] | 7.441<br>[7.410; 7.450] |
| $\text{PCO}_2$ , мм рт. ст.              | 49.4<br>[46.3; 52.9]    | 47.1<br>[43.1; 51.1]    | 53.1<br>[50.8; 55.5]#   | 52.2<br>[49.1; 55.3]    |

Таблица 1. Окончание

| Показатель                              | Контроль             | Озон                 |                      |                       |
|-----------------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|
|                                         |                      | 1 мкг/кг             | 10 мкг/кг            | 100 мкг/кг            |
| <i>n</i>                                | 14                   | 14                   | 14                   | 14                    |
| HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , ммоль/л | 35.7<br>[32.7; 37.2] | 31.5<br>[29.8; 35.3] | 37.1<br>[30.1; 39.1] | 35.8<br>[34.4; 36.3]  |
| TCO <sub>2</sub> , ммоль/л              | 37.3<br>[34.1; 38.9] | 33.1<br>[31.0; 36.7] | 38.6<br>[31.9; 40.7] | 37.6<br>[35.9; 37.9]  |
| ABE, ммоль/л                            | 10.9<br>[8.6; 13.1]  | 12.3<br>[11.6; 13.8] | 13.2<br>[12.5; 15.3] | 11.6<br>[10.3; 11.9]ψ |
| SBE, ммоль/л                            | 9.9<br>[8.35; 12.28] | 11.3<br>[7.5; 13.1]  | 12.2<br>[11.7; 13.9] | 10.5<br>[9.8; 11.0]ψ  |

Примечание. Данные представлены как медиана [25-й квартиль – 75-й квартиль]. Достоверные изменения в сравнении с контролем – \* и группами с концентрацией озона 1 мг/кг – # и 10 мг/кг – ψ.

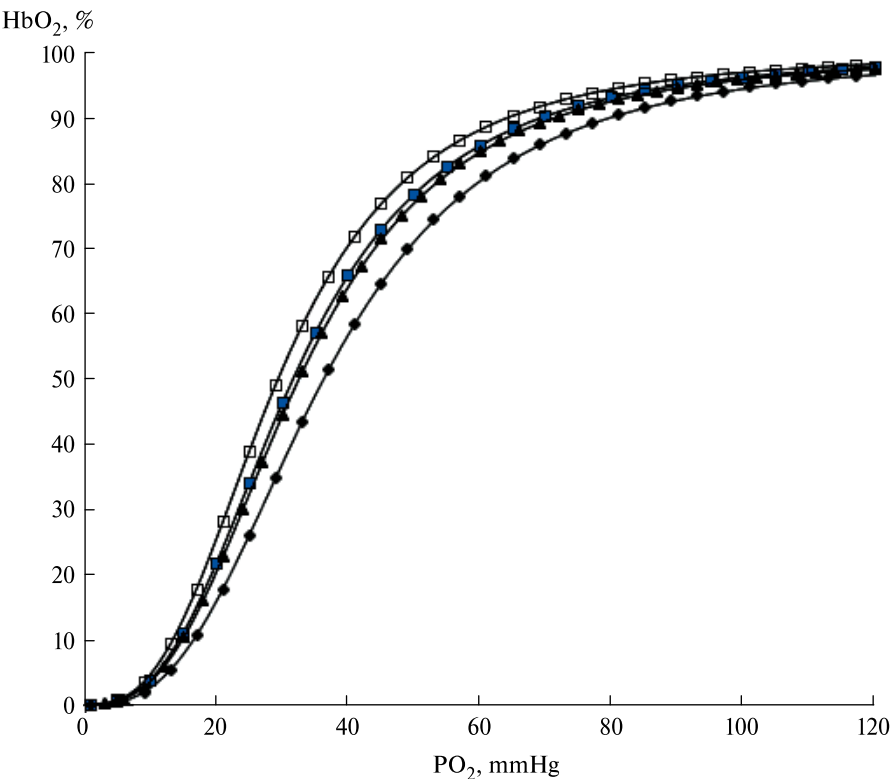
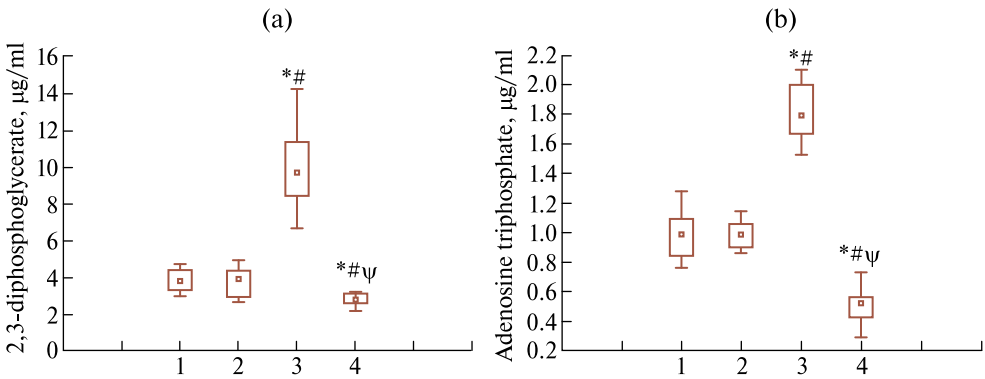


Рис. 1. Эффект озона разной концентрации на положение кривой диссоциации оксигемоглобина при реальных значениях pH и PCO<sub>2</sub>. Обозначения: ■ – контроль; ▲ – 1 мкг/кг O<sub>3</sub>; ◆ – 10 мкг/кг O<sub>3</sub>; □ – 100 мкг/кг O<sub>3</sub>.

К внутриэритроцитарным механизмам, формирующим СГК, относятся 2,3-ДФГ и АТФ. При воздействии озона с концентрацией 10 мкг наблюдался рост 2,3-ДФГ (рис. 2) до 9.76 [8.46; 11.39] мкмоль/мл (*p* < 0.001) в сравнении с контролем –

3.86 [3.33; 4.39] мкмоль/мл. При более высоких дозах озона этот параметр снижался до 2.82 [2.65; 3.14] мкмоль/мл ( $p < 0.001$ ), тогда как при минимальных концентрациях озона не наблюдалось изменения его содержания. Похожая динамика отмечалась и по содержанию АТФ в эритроцитах (рис. 2). При минимальной концентрации озона не наблюдалось изменения уровня АТФ в эритроцитах, тогда как при концентрации озона 10 мкг/кг выявлен значительный рост данного показателя до 1.78 [1.67; 2.00] мкмоль/мл ( $p < 0.001$ ) в сравнении с контрольной группой (0.99 [0.84; 1.09] мкмоль/мл), а при концентрации 100 мкг/кг наблюдалось снижение содержания АТФ в эритроцитах – 0.5 [0.42; 0.56] мкмоль/мл ( $p < 0.001$ ). Полученные результаты свидетельствуют о том, что при действии озона со средней (10 мкг/кг) концентрацией наблюдалось увеличение 2,3 ДФГ и АТФ, являющихся модуляторами СГК.



**Рис. 2.** Влияние озона разной концентрации на содержание 2,3-дифосфоглицерата (а) и аденозинтрифосфата (б). 1 – контроль, 2 – 1 мкг/кг  $O_3$ , 3 – 10 мкг/кг  $O_3$ , 4 – 100 мкг/кг  $O_3$ . Достоверные изменения в сравнении с контролем – \* и группами с концентрацией озона 1 мг/кг – # и 10 мг/кг – ψ.

Суммарное содержание  $NO_3^-/NO_2^-$  в плазме крови (табл. 2) в группе с концентрацией озона 10 мкг/кг увеличилось (на 55.8%,  $p < 0.001$ ) в сравнении с контролем. В группах с минимальной и максимальной концентрациями озона содержание нитрат/нитритов в плазме не изменялось по сравнению с контролем. Уровень газотрансмиттера  $H_2S$  (табл. 2) при введении озона средней концентрации возрастал (на 98.1%,  $p < 0.001$ ) в сравнении с контролем. Введение озона с минимальной и максимальной концентрациями не приводило к изменению содержания данного газотрансмиттера в плазме крови.

**Таблица 2.** Влияние озона разной концентрации на содержание газотрансмиттеров

| Показатель                    | Контроль                | Озон                    |                             |                          |
|-------------------------------|-------------------------|-------------------------|-----------------------------|--------------------------|
|                               |                         | 1 мкг/кг                | 10 мкг/кг                   | 100 мкг/кг               |
| <i>n</i>                      | 14                      | 14                      | 14                          | 14                       |
| $NO_3^-/NO_2^-$ ,<br>мкмоль/л | 11.48<br>[10.47; 13.61] | 11.88<br>[10.12; 13.01] | 17.88<br>[17.67; 19.87] *#  | 10.35<br>[7.71; 11.73] ψ |
| $H_2S$ ,<br>мкмоль/л          | 11.26<br>[9.96; 12.83]  | 11.60<br>[10.58; 12.61] | 22.30<br>[18.85; 28.45] * # | 10.56<br>[9.56; 11.56] ψ |

Примечание. Данные представлены как медиана [25-й квартиль – 75-й квартиль]. Достоверные изменения в сравнении с контролем – \* и группами с концентрацией озона 1 мг/кг – # и 10 мг/кг – ψ.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Озон оказывает широкий спектр физиологических эффектов, которые могут быть обусловлены его влиянием, в частности, на КТФ крови. В работах ряда исследователей обсуждался вопрос о действии озона на SGK [10, 11], однако конкретных исследований в данном аспекте практически не проводилось. SGK является важным фактором, который определяет поступление кислорода из альвеолярного воздуха в кровь, а затем на уровне капилляров в ткань [12]. В наших исследованиях введение озона в концентрации 10 мкг/кг характеризуется снижением SGK крови (судя по росту показателей  $P_{50\text{реал}}$  и  $P_{50\text{станд}}$ ), что способствует усилению потока кислорода в ткани и улучшает ее оксигенацию.

Эффект озона на основные компоненты крови в организме, в частности на гемоглобин, определяется его дозой и обусловлен как прямыми, так и опосредованными механизмами. Прежде всего озон активирует процессы свободнорадикального окисления, которые могут вызывать повреждение мембраны эритроцитов и соответственно нарушение их функций, а также он может влиять на внутриэритроцитарную систему регуляции кислородсвязывающих свойств крови через различные модуляторы SGK. Так, в опытах *in vitro* малые концентрации (менее 20 мкг/л) не вызывают существенно-го сдвига липопероксидации в крови, тогда как более высокие (50 мкг/л и выше) существенно повышают активность этих процессов [13]. Очевидно, отсутствие изменений показателей КТФ крови в наших исследованиях при введении озона в малых (1 мкг/кг) и высоких (100 мкг/кг) дозах и сдвиг положения КДО вправо при средней (10 мкг/кг) концентрации являются проявлением феномена гормезиса [14], при котором умеренное воздействие вызывает проявление реакции эустресса, а чрезмерное – дистресса, что приводит к истощению компенсаторных ресурсов организма.

Эритроциты способны регулировать процессы присоединения, транспорта и доставки кислорода, изменения SGK посредством эндогенных аллостерических регуляторов, таких как  $H^+$ ,  $CO_2$ , 2,3-ДФГ,  $Cl^-$  и лактат [15]. Концентрации этих факторов в эритроцитах варьируют в зависимости от клеточного метаболизма и изменений во внеклеточной среде, что приводит к адаптивным изменениям SGK, оптимизирующим снабжение тканей кислородом. 2,3-ДФГ служит важным аллостерическим регулятором связывания кислорода с гемоглобином, а АТФ влияет на деформацию клеток, что в совокупности обеспечивает эффективную доставку кислорода к тканям [16, 17]. Образование 2,3-ДФГ в эритроцитах регулируется различными сигнальными путями [18]. Его продукция связана с высокой активностью гликолитических ферментов, увеличивающих количество глюкозы, необходимой для реакции 1,3-дифосфоглицерата с дифосфоглицератмутазой, которая является ключевым ограничивающим ферментом для синтеза 2,3-ДФГ в шунте Раппопорта. Как видно из рис. 2, озон в концентрации 10 мкг/кг приводит к увеличению в эритроцитах содержания как АТФ, так и 2,3-ДФГ. По всей видимости, в эритроцитах наблюдается усиление поглощения глюкозы, что вызывает рост концентрации АТФ и 2,3-ДФГ [16], приводящий к сдвигу КДО вправо, улучшая кислородное обеспечение тканей.

Согласно нашим [12] и другим исследованиям [19, 20], модификация SGK может быть связана с изменениями в содержании газотрансмиттеров, а именно монооксида азота и сероводорода. В соответствии с полученными результатами при использовании средних доз озона наблюдается уменьшение SGK, сопровождающееся увеличением содержания метаболитов монооксида азота (нитрат/нитритов) в плазме, что отражает участие L-аргинин-NO-системы в регуляции данных процессов. Данный газотрансмиттер, образующийся из L-аргинина под действием NO-синтазы, выполняет роль сигнальной молекулы в организме [21]. Газотрансмиттер монооксид азота является свободнорадикальной молекулой, которая может инициировать образование активных форм азота, обладающих выраженной окислительной активностью,

как пример – пероксинитрит (продукт его взаимодействия с супероксид-анионом). Однако в отличие от свободных радикалов NO может образовываться в организме за счет увеличения активности различных изоформ NO-синтаз (индуцибельной, нейрональной и эндотелиальной), но наиболее значимой по вкладу является последняя, за счет активности которой обеспечивается синтез более 90% NO от общего количества, образующегося в организме [22]. В наших опытах наблюдается увеличение образования NO при введении животным озона только в средней (10 мкг/кг) концентрации, в то время как при применении его минимальных (1 мкг/кг) и максимальных (100 мкг/кг) доз этого не наблюдается. В опытах *in vitro* [5] был продемонстрирован дозозависимый эффект относительно малых концентраций озона (2–10 мг/л) на содержание газотрансмиттера NO. Показано, что ректальное введение крысам озона в концентрации 50 мкг/мл на протяжении 15 суток до моделирования ишемии/реперфузии почек приводит к значительному повышению содержания нитратов в плазме [23], что связано с активацией эндотелиальной изоформы NO-синтазы. Так, в опытах на крысах при сахарном диабете при интраперитонеальном введении озона в концентрации 60 мкл/мл наблюдаются увеличение экспрессии данной изоформы NO-синтазы (от  $1.47 \pm 2.06$  до  $19.28 \pm 3.40$  нг/мл) и отсутствие активации индуцибельной и нейрональной [24]. В нашем исследовании системные механизмы повышения содержания NO, очевидно, связаны с активацией эндотелиальной изоформы NO-синтазы, катализирующей образование данного газотрансмиттера, что является отражением герметической стимуляции, обеспечивающей адаптационный ответ системы организма на действие данного фактора, при котором его относительно умеренные значения оказывают стимулирующее воздействие, а более высокие – ингибирующее на компенсаторные ресурсы.

При действии озона эндотелиальные клетки, активированные окисленным альбумином, S-нитрозотиолами плазмы и S-нитрозогемоглобином (предшественниками NO), увеличивают образование этого газотрансмиттера [25]. NO, активируя гуанилатциклазу, необходимую для образования циклического гуанозинмонофосфата, приводит к вазодилатации и таким образом усиливает процессы транспорта кислорода в ткани [26, 27]. Данный газотрансмиттер инициирует S-нитрозирование белков, при котором он взаимодействует с тиоловой группой цистеина с образованием S-нитрозотиола, оказывает влияние на различные клеточные процессы [27], в том числе и на КТФ крови. В опытах на мышах в условиях тяжелой степени гипоксии при вдыхании NO с различной концентрацией (5, 10, 20 ppm) выявлено увеличение времени выживаемости, физической работоспособности, что обусловлено увеличением сатурации крови кислородом, его артериовенозной разницы, сдвигом КДО влево [19], вызванного механизмами эффекта Бора и изменением соотношения между фракциями нитрозо- и нитрозилгемоглобина. Исходя из вышеизложенного, системное действие озона (в дозе 10 мкг/кг) на кислородсвязывающие свойства крови реализуется через NO-зависимые механизмы.

К системе газовых мессенджеров, помимо монооксида азота, относят и сероводород, который является важной сигнальной молекулой, участвующей в различных физиологических и патологических процессах, таких как вазодилатация, ангиогенез, воспаление и другие [30]. H<sub>2</sub>S выполняет ключевую роль в регуляции продукции 2,3-ДФГ и, следовательно, способен изменять СГК [15]. Согласно данным этих авторов, эндогенный H<sub>2</sub>S уменьшает процессы транслокации гемоглобина в мембране эритроцитов, за счет чего дифосфоглицератмутаза остается закрепленной на мембране и поддерживается нормальная концентрация 2,3-ДФГ в условиях нормоксии, а в условиях гипоксии сниженное содержание H<sub>2</sub>S способствует закреплению гемоглобина в мембране эритроцитов и высвобождению дифосфоглицератмутазы в цитозоль, что приводит к увеличению содержания 2,3-ДФГ. Озон способствует изменению липопротеидных комплексов мембраны эритроцитов, при этом модифицирует

их функциональные свойства через цистеин/цистеиновый путь [5].  $\text{H}_2\text{S}$ , уровень которого повышается в наших исследованиях при введении животным озона средней концентрации, может связываться с метгемоглобином, образуя сульфгемоглобин [29], который совместно с NO-производными гемоглобина может способствовать изменению положения КДО.

Газотрансмиттеры NO и  $\text{H}_2\text{S}$  обладают некоторыми общими свойствами: широко распространены в различных тканях и органах, могут быть синтезированы эндогенно, период полураспада составляет от нескольких секунд до минут, несмотря на малые концентрации имеют важное значение в реализации разнообразных физиологических процессов [30]. Исследования на эндотелиальных клетках пупочной вены человека показали, что фосфорилирование eNOS и продукция NO усиливаются при действии донора  $\text{H}_2\text{S}$  гидросульфида натрия (NaHS) [31, 32]. У мышей, нокаутированных по гену цистатионин-γ-лиазы (CSE), наблюдается нарушение функции eNOS и снижение концентрации NO [31]. С другой стороны, доноры NO могут усиливать экспрессию ферментов, продуцирующих  $\text{H}_2\text{S}$ . Так, донор NO, нитропруссид натрия, приводит к росту активности цистатион-β-синтазы (CBS) в суспензии клеток головного мозга крыс [32].  $\text{H}_2\text{S}$  способен взаимодействовать с NO в условиях окислительного стресса. Смесь доноров NO (нитропруссид натрия, SIN-1 или SNAP) с NaHS оказывает противоположное действие на сократимость сердца в сравнении с действием этих газов по отдельности. Вероятно,  $\text{H}_2\text{S}$  взаимодействует с окисленными формами NO, такими как  $\bullet\text{NO}$ , или активными формами азота ( $\text{ONOO}^-$ ) в присутствии клеточных оксидантов (активных форм кислорода и оксидаз), образуя новые молекулы, такие как нитрозотиол, азотно-серная кислота ( $\text{HSNO}$ ) [33]. Можно предположить, что в наших исследованиях действие озона осуществляется посредством синергетического механизма взаимодействия данных газотрансмиттеров, NO и  $\text{H}_2\text{S}$ .

Газотрансмиттеры вносят вклад в модификацию SGK, которое достигается через различные механизмы: образование дериватов гемоглобина (нитрозо-, нитрозил-, мет-, сульфгемоглобин), модуляторов внутриэритроцитарной системы формирования кислородсвязывающих свойств крови, а также опосредовано через системные механизмы формирования функциональных свойств гемоглобина [34]. Концентрация NO- и  $\text{H}_2\text{S}$ -производных гемоглобина в крови относительно невелика, на каждый из этих дериватов приходится несколько сотен молекул обычного гемоглобина, но при более высоких концентрациях их эффект на модификацию кислородсвязывающих свойств крови может проявляться более существенно, что может иметь важное значение для процессов газообмена на уровне капилляров [12]. Озон оказывает эффект на SGK не только через изменение метаболизма эритроцитов и модификацию функциональных свойств гемоглобина, но и через вклад в функционирование систем цистеин/цистин и L-аргинин-NO.

Таким образом, результаты проведенных нами исследований свидетельствуют о том, что введение крысам 0.9%-ного раствора NaCl с концентрацией озона в нем 10 мкг/кг в течение 10 суток приводит к увеличению показателей КТФ крови, проявляющихся в увеличении парциального давления кислорода, степени насыщения крови кислородом и снижении SGK, что способствует улучшению доставки кислорода тканям. Однако введение озона в более низких (1 мкг/кг) и высоких (100 мкг/кг) концентрациях такого эффекта не оказывает. Введение озона в концентрации 10 мкг/кг в течение используемого курса обуславливает увеличение содержания 2,3-ДФГ и АТФ, а его более высокая концентрация снижает данные параметры, в то время как при минимальной концентрации их содержание не меняется. Выявленный эффект озона на КТФ крови крыс, проявляющийся в уменьшении SGK, реализуется через увеличение концентрации газотрансмиттеров (монооксида азота и сероводорода), способствующих росту таких модуляторов, как 2,3-ДФГ и АТФ.

## ВКЛАДЫ АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента (В. В. З.), сбор данных (М. А. М., И. Э. Г.), обработка данных (М. А. М., В. В. З., И. Э. Г.), написание и редактирование манускрипта (В. В. З., М. А. М.).

## ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнялась в рамках программы исследований, запланированных в учреждении образования “Гродненский государственный медицинский университет”.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и институциональные принципы использования животных и ухода за ними были соблюдены. Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам, принципам Базельской декларации и рекомендациям биоэтического комитета учреждения образования “Гродненский государственный медицинский университет” (протокол № 1 от 31 января 2023 г.).

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Халилова АС-А, Иванов СВ (2020) Озонотерапия – способ улучшения состояния организма на тканевом уровне. Применение в медицине и сочетании с санаторно-курортным лечением в Крыму (обзор литературы). Трансляц мед 7 (3): 38–44. [Khalilova AS-A, Ivanov S (2020) Ozone therapy – a way to improve the body's condition at the tissue level. Application in medicine and in combination with spa treatment in Crimea (literature review). Translat Med 7 (3): 38–44. (In Russ)]. <https://doi.org/10.18705/2311-4495-2020-7-3-38-44>
2. Аширметов АХ, Мавлянов ИР, Мавлянов ЗИ (2021) О возможности применения озона в лечении COVID-19. Juvenis Scientia 7 (3): 5–10. [Ashyrmotov AKh, Mavlyanov IR, Mavlyanov ZI (2021) On the possibility of using ozone in the treatment of COVID-19. Juvenis Scientia 7 (3): 5–10. (In Russ)]. [https://doi.org/10.32415/jscentia\\_2021\\_7\\_3\\_5-10](https://doi.org/10.32415/jscentia_2021_7_3_5-10)
3. Серов ВН (2022) Методы системного применения озона в медицинской практике. Биорадикалы и антиоксиданты 9(1-2): 41–76. [Sеров ВН (2022) Methods of systemic application of ozone in medical practice. Bioradicals and Antioxidants 9(1-2): 41–76. (In Russ)].
4. Jian-Xiong An, Guo-Ping Wu, Kun Niu, You-Ping Wei, Hui Liu, Xin-You Gao, Jian-Ping Wu, Yong Wang, Harald Renz, John P. Williams (2022) Treatment of Femoral Head Osteonecrosis with Ozone Therapy: Pilot Trial of a New Therapeutic Approach. Pain Physician 25: 43–54.
5. Зинчук ВВ, Билецкая ЕС (2020) Эффект озона на кислородтранспортную функцию крови при различных режимах воздействия в опытах *in vitro*. Биофизика 65(5): 915–919. [Zinchuk VV, Biletskaya ES (2020) The effect of ozone on the oxygen transport function of blood under various exposure conditions *in vitro* experiments. Biophysics 65(5): 915–919. (In Russ)]. <https://doi.org/10.31857/S0006302920050099>
6. Burtis CA, Ashwood ER (1999) Tietz Textbook of Clinical Chemistry. Philadelphia. WB Saunders 37(11-12): 1136.
7. Виноградова ИЛ, Багрянцева СЮ (1980) Метод одновременного определения 2,3-ДФГ и АТФ в эритроцитах. Лаб дело 7: 424–426. [Vinogradova IL, Bagryantseva SYu (1980) Method for simultaneous determination of 2,3-DPG and ATP in erythrocytes. Lab Delo 7: 424–426. (In Russ)].

8. *Satomi Kagota, Yu Yamaguchi, Kazuki Nakamura, Kazumasa Shinozuka, Masaru Kunitomo* (2004) Chronic nitric oxide exposure alters the balance between endothelium-derived relaxing factors released from rat renal arteries: prevention by treatment with NOX-100, a NO scavenger. *Life Sci* 74(22): 2757–2767.  
<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2003.10.019>
9. *Norris EJ, Culbertson CR, Narasimhan S, Clemens MG* (2011) The liver as central regulator of hydrogen sulfide. *Shock* 36(3): 242–250.  
<https://doi.org/10.1097/SHK.0b013e3182252ee7>
10. *Kuroda K, Yamashita M, Murahata Y, Azuma K, Osaki T, Tsuka T, Ito N, Imagawa T, Okamoto Y* (2018) Use of ozonated water as a new therapeutic approach to solve current concerns around antitumor treatment. *Exp Ther Med* 16(3): 1597–1602.  
<https://doi.org/10.3892/etm.2018.6415>
11. *Viebahn-Haensler R, Fernández O-L* (2024) Ozone in medicine. The low-dose ozone concept. The redox-bioregulatory effect as prominent biochemical mechanism and the role of glutathione. *Ozone: Sci & Engineer* 46(3): 267–279.  
<https://doi.org/10.1080/01919512.2023.2291756>
12. *Зинчук ВВ, Глуткина НВ* (2023) Средство гемоглобина к кислороду при коронавирусной инфекции: новые грани известной проблемы. *Рос физиол журн им ИМ Сеченова* 109(12): 1780–1798. [*Zinchuk VV, Glutkina NV* (2023) Hemoglobin affinity for oxygen in coronavirus infection: new aspects of a well-known problem. *Russ J Physiol* 109(12): 1780–1798. (In Russ)].  
<https://doi.org/10.31857/S0869813923120178>
13. *Перетягин СП* (2012) Оценка эффекта различных доз озона на процессы липопероксидации и кислородообеспечение крови *in vitro*. *Мед альманах* 2(21): 101–104. [*Peretyagin SP* (2012) Evaluation of the effect of different doses of ozone on lipid peroxidation processes and blood oxygen supply *in vitro*. *Med Almanach* 2(21): 101–104. (In Russ)].
14. *Ерофеева ЕА, Гелашивили ДБ, Розенберг ГС* (2023) Современная концепция гормезиса: обзор проблемы и значение для экологии. *Успехи совр биол* 143(6): 553–564. [*Erofeeva EA, Gelashvili DB, Rosenberg GS* (2023) The modern concept of hormesis: a review of the problem and its significance for ecology. *Advances Modern Biol* 143(6): 553–564. (In Russ)].
15. *Wang G, Huang Y, Zhang N, Liu W, Wang C, Zhu X, Ni X* (2021) Hydrogen Sulfide Is a Regulator of Hemoglobin Oxygen-Carrying Capacity via Controlling 2,3-BPG Production in Erythrocytes. *Oxid Med Cell Longev* 2021: 1–16.  
<https://doi.org/10.1155/2021/8877691>
16. *Jensen FB* (2004) Red blood cell pH, the Bohr effect and other oxygenation-linked phenomena in blood O<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> transport. *Acta Physiol Scand* 182(3): 215–227.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-201X.2004.01361.x>
17. *Matteucci E, Cocci F, Pellegrini L, Gregori G, Navalesi R, Giampietro O* (1992) Erythrocyte ATPase enzymes family in normal people. *Eur J Clin Invest* 22(4): 11–18.
18. *Sun K, Zhang Y, D'Alessandro A, Nemkov T, Song A, Wu H, Liu H, Adebisi M, Huang A, Wen Y, Bogdanov MV, Vila A, O'Brien J, Kellems R, Dowhan W, Subudhi AW, Houten SJ-V, Julian CG, Lovering AT, Safo M, Hansen KC, Roach RC, Xia Y* (2016) Sphingosine-1-phosphate promotes erythrocyte glycolysis and oxygen release for adaptation to high-altitude hypoxia. *Nat Commun* 2016: 1–13.  
<https://doi.org/10.1038/ncomms12086>  
[www.nature.com/naturecommunications](http://www.nature.com/naturecommunications)
19. *Zhou X, Su W, Bao Q, Cui Y, Li X, Yang Y, Yang Ch, Wang Ch, Jiao L, Chen D, Huang J* (2024) Nitric oxide ameliorates the effects of hypoxia in mice by regulating oxygen transport by hemoglobin. *High Alt Med Biol* 25(3): 174–185.  
<https://doi.org/10.1089/ham.2023.0044>
20. *Simone G, Masi A, Sbardella D, Ascenzi P, Coletta M* (2024) Nitric oxide binding geometry in heme-proteins: relevance for signal transduction. *Antioxidants* 136: 1–21.  
<https://doi.org/10.3390/antiox13060666>
21. *Zagrean-Tuza C, Igescu I, Lupan A, Silaghi-Dumitrescu R* (2024) A study of the molecular interactions of hemoglobin with diverse classes of the therapeutic agents. *Inorgan Chim Acta* 567: 1–16.  
<https://doi.org/10.1016/j.ica.2024.122053>
22. *Kelm V, Rath J* (2001) Endothelial dysfunction in human coronary circulation: relevance of the L-arginine-NO pathway. *Basic Res Cardiol* 96: 107–127.

23. *Chen H, Xing B, Liu X, Zhan B, Zhou J, Zhu H, Chen Z* (2008) Ozone oxidative preconditioning protects the rat kidney from reperfusion injury: the role of nitric oxide. *J Surg Res* 149: 287–295. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2007.12.756>
24. *Colakerol A, Temiz MZ, Tavukcu HH, Aykan S, Ozsoy S, Sahan A, Kandirali E, Semercioz A* (2019) Effects of ozone treatment on penile erection capacity and nitric oxide synthase levels in diabetic rats. *Int J Impot Res* 33(5): 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41443-020-0301-1>
25. *Borges FS, Meyer PF, Jahara RS, Carreiro EM, Antonuzzo PE, Picariello F, Palma C* (2021) Fundamentals of the use of ozone therapy in the treatment of aesthetic disorders: a review. *J Biosci Med* 9(12): 40–70.
26. *Sun C-W, Yang J, Kleschyov AL, Zhuge Zh, Carlström M, Pernow J, Wajih N, Isbell TS, Oh J-Y, Cabrales P, Tsai AG, Townes T, Kim-Shapiro DB, Patel RP, Lundberg JO* (2019) Hemoglobin beta93 cysteine is not required for export of nitric oxide bioactivity from the red blood cell. *Circulation* 139(23): 2654–2663. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.118.03928>
27. *Stomberski CT, Hess DT, Stamler JS* (2019) Protein S-Nitrosylation: determinants of specificity and enzymatic regulation of S-nitrosothiol-based signaling. *Antioxid Redox Signal* 30(10): 1331–1351. <https://doi.org/10.1089/ars.2017.7403>
28. *Zhu XY, Liu SJ, Liu YJ, Wang S, Ni X* (2010) Glucocorticoids suppress cystathionine gamma-lyase expression and H<sub>2</sub>S production in lipopolysaccharide-treated macrophages. *Cell Mol Life Sci* 67: 1119–1132. <https://doi.org/10.1007/s00018-009-0250-9>
29. *Зинчук ВВ* (2021) Кислородтранспортная функция крови и газотрансмиттер сероводород. Успехи физиол наук 52(3): 41–55. [*Zinchuk VV* (2021) Oxygen transport function of blood and gas transmitter hydrogen sulfide. *Advanc Physiol Sci* 52(3): 41–55. (In Russ)]. <https://doi.org/10.31857/S0301179821030085>
30. *Гусакова СВ, Смаглий ЛВ, Бирулина ЮГ, Ковалев ИВ, Носарев АВ, Петрова ИВ, Реутов ВП* (2017) Молекулярные механизмы действия газотрансмиттеров NO, CO и H<sub>2</sub>S в гладкомышечных клетках и влияние NO-генерирующих соединений (нитратов и нитритов) на среднюю продолжительность жизни. Успехи физиол наук 48(1): 24–52. [*Gusakova SV, Smaglii LV, Birulina YuG, Kovalev IV, Nosarev AV, Petrova IV, Reutov VP* (2017) Molecular mechanisms of action of NO, CO, and H<sub>2</sub>S gas transmitters in smooth muscle cells and the effect of NO-generating compounds (nitrates and nitrites) on average life expectancy. *Advanc Physiol Sci* 48(1): 24–52. (In Russ)].
31. *Nagpure BV, Bian J-S* (2016) Interaction of Hydrogen Sulfide with Nitric Oxide in the Cardiovascular System. *Oxidat Med Cell Longev* 2016: 1–16. <https://doi.org/10.1155/2016/6904327>
32. *Yong Q-C, Hu L-F, Wang S* (2010) Hydrogen sulfide interacts with nitric oxide in the heart: possible involvement of nitroxyl. *Cardiovasc Res* 88(3): 482–491. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvq248>
33. *Liu Y-H, Lu M, Hu L-F* (2012) Hydrogen sulfide in the mammalian cardiovascular system. *Antioxidant Redox Signal* 17(1): 141–185. <https://doi.org/10.1089/ars.2011.4005>
34. *Zhu Zh, Chambers S, Zeng Y, Bhatia M* (2022) Gases in sepsis: novel mediators and therapeutic targets. *Int J Mol Sci* 23: 1–19. <https://doi.org/10.3390/ijms23073669>

## Effect of Ozone on the Oxygen-Transport Function of Blood and the Content of Gasotransmitters (Nitric Oxide and Hydrogen Sulfide) in Rats

V. V. Zinchuk<sup>a, \*</sup>, M. A. Melenets<sup>a</sup>, and I. E. Gulyai<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Grodno State Medical University, Grodno, Belarus

\*e-mail: zinchuk@grsmu.by

Ozone therapy is a highly effective method of rehabilitation of the body in various pathologies, the effects of which can be associated with its influence on the mechanisms of oxygen transport in the blood. The aim of this work is to study the effect of ozone in various concentrations on the oxygen-transport function of the blood, the content of 2,3-diphosphoglycerate and adenosine triphosphate, the gasotransmitter system (nitrogen monoxide and hydrogen sulfide) in rats. The experiment was performed on white outbred male rats ( $n = 56$ ), which were divided into 4 groups: the control group, which received 1.0 ml of 0.9% NaCl solution intraperitoneally for 10 days, and 3 experimental groups, which were administered 0.9% NaCl solution with an ozone concentration of 1, 10 and 100  $\mu\text{g/kg}$  of animal weight, respectively, for 10 days. Blood oxygen-transport function indices, 2,3-diphosphoglycerate and adenosine triphosphate, nitrate/nitrite and hydrogen sulfide content were determined. Animals that received ozone at a concentration of 10  $\mu\text{g/kg}$  showed an increase in  $\text{PO}_2$ ,  $\text{SO}_2$ ,  $\text{P50}_{\text{real}}$ , 2,3-diphosphoglycerate, adenosine triphosphate and gas transmitters (nitrogen monoxide and hydrogen sulfide) compared to the control. No changes in blood oxygen-binding properties were observed when using ozone at minimum and maximum concentrations. The revealed effect of ozone (at a dose of 10  $\mu\text{g/kg}$ ) on rat blood oxygen-transport function, manifested in a decrease in hemoglobin affinity for oxygen, is realized through an increase in gas transmitters (nitrogen monoxide and hydrogen sulfide), promoting the growth of such modulators as 2,3-diphosphoglycerate and adenosine triphosphate.

**Keywords:** ozone, blood, oxygen, gasotransmitter, nitrogen monoxide, hydrogen sulfide, 2,3-diphosphoglycerate