

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ  
ФЕДЕРАЦИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования  
«Приволжский исследовательский медицинский университет»  
Министерства Здравоохранения Российской Федерации

*На правах рукописи*

Соловьева Анна Геннадьевна

**СОСТОЯНИЕ И ОСОБЕННОСТИ РЕГУЛЯЦИИ ОКСИДОРЕДУКТАЗ  
СИСТЕМЫ БИОТРАНСФОРМАЦИИ ПРИ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЕ  
И В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ АКТИВНЫМИ ФОРМАМИ  
КИСЛОРОДА И АЗОТА**

03.01.04 – Биохимия

Диссертация на соискание ученой степени  
доктора биологических наук

Научный консультант:  
Заслуженный деятель науки РФ,  
Академик РАН,  
доктор медицинских наук,  
профессор  
В.И. Сергиенко

Нижний Новгород

2020

## СОДЕРЖАНИЕ

	Стр.
Список сокращений.....	5
ВВЕДЕНИЕ.....	6
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	16
1.1. Метаболическая адаптация организма в норме и при патологии.....	16
1.1.1. Система биотрансформации в тканях и органах (биохимические аспекты).....	16
1.1.2. Роль активных форм кислорода и свободнорадикального окисления в физиологии и патологии клетки.....	18
1.1.3. Механизмы образования активных форм кислорода в митохондриях	24
1.1.4. Антиоксидантная система защиты организма.....	29
1.1.5. Окислительный стресс в биологических системах.....	33
1.1.6. Карбонильный стресс.....	34
1.1.7. Нарушения метаболизма в патогенезе ожоговой болезни.....	39
1.2. Особенности регуляции оксидоредуктаз клетки.....	44
1.2.1. Ферменты антиоксидантной защиты.....	44
1.2.2. Альдегиддегидрогеназа: строение, каталитические свойства, значение в системе детоксикации организма.....	49
1.2.3. Алкогольдегидрогеназа: характеристика, свойства, роль в защитных механизмах организма.....	54
1.2.4. Лактатдегидрогеназа: формы, участие в биохимических и физиологических процессах организма.....	59
1.3. Активные формы кислорода и азота в биосистемах: биологическое значение, механизмы действия.....	62
1.3.1. Оксид азота и его роль в механизмах развития патологических процессов, применение в биологии и медицине.....	62
1.3.2. Биологические аспекты влияния синглетного кислорода на организм	73
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	77
2.1. Объем и дизайн исследования.....	77
2.2. Методы исследования.....	94
2.2.1. Приготовление гомогенатов органов, выделение субклеточных фракций.....	94
2.2.2. Электронно-микроскопическое исследование митохондрий.....	95
2.2.3. Определение активности альдегиддегидрогеназы.....	97
2.2.4. Определение активности алкогольдегидрогеназы.....	98
2.2.5. Определение активности лактатдегидрогеназы.....	99
2.2.6. Определение активности сукцинатдегидрогеназы.....	100
2.2.7. Определение активности цитохром <i>c</i> оксидазы.....	100
2.2.8. Определение активности супероксиддисмутазы.....	101
2.2.9. Определение активности каталазы.....	102
2.2.10. Определение активности глутатионредуктазы.....	102
2.2.11. Определение активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы.....	103
2.2.12. Определение кинетических характеристик фермента.....	103

2.2.13. Спектрофотометрический метод количественного определения белков.....	105
2.2.14. Оценка концентрации ТБК-реактивных продуктов.....	105
2.2.15. Метод биохимиллюминесцентного анализа.....	106
2.2.16. Определение концентрации глюкозы и лактата.....	106
2.2.17. Определение концентрации метаболитов оксида азота.....	106
2.2.18. Морфологическое исследование легких.....	109
2.3. Статистическая обработка результатов.....	110
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.....	111
3.1. Особенности регуляции оксидоредуктаз крови и тканей при экспериментальной комбинированной термической травме.....	111
3.1.1. Особенности свободнорадикального окисления крови и органов крыс при комбинированной термической травме.....	111
3.1.2. Антиоксидантная система защиты крови и органов при ожоге.....	116
3.1.3. Состояние дыхательной цепи митохондрий при экспериментальной комбинированной термической травме.....	136
3.1.4. Содержание глюкозы и лактата в крови крыс с ожогом.....	140
3.1.5. Активность и кинетические свойства лактатдегидрогеназы в крови и органах крыс с ожогом.....	142
3.1.6. Активность и кинетические свойства алкогольдегидрогеназы в органах крыс с комбинированной термической травмой.....	151
3.1.7. Активность и кинетические свойства альдегиддегидрогеназы крови и органов крыс с ожогом.....	158
3.1.7.1. Особенности регуляции альдегиддегидрогеназы эритроцитов крыс в норме и при комбинированной термической травме.....	163
3.1.7.2. Топохимия альдегиддегидрогеназы эритроцитов крови.....	165
3.1.7.3. Выделение, частичная очистка, изучение свойств альдегиддегидрогеназы печени крыс в норме и при ожоге.....	167
3.1.7.4. Генетические изменения активности альдегиддегидрогеназы после термической травмы.....	171
3.2. Обоснование возможности применения активных форм кислорода и азота на примере изменения активности оксидоредуктаз.....	176
3.2.1. Регуляция активности оксидоредуктаз под влиянием активных форм кислорода и азота в эксперименте <i>in vitro</i> (консервированная кровь).....	176
3.2.1.1. Влияние NO от аппарата «Плазон» на каталитические свойства оксидоредуктаз.....	176
3.2.1.2. Влияние газообразного NO на активность оксидоредуктаз.....	180
3.2.1.3. Влияние динитрозильных комплексов железа на активность оксидоредуктаз.....	182
3.2.1.4. Влияние синглетного кислорода на активность и кинетические свойства окислительно-восстановительных ферментов крови.....	184
3.2.2. Воздействие активных форм кислорода и азота на биохимические показатели крови и органов здоровых крыс.....	192
3.2.2.1. Влияние NO на каталитические свойства оксидоредуктаз крови и органов здоровых крыс.....	192

3.2.2.2. Влияние динитрозильных комплексов железа на особенности регуляции оксидоредуктаз крови и органов здоровых крыс.....	207
3.2.2.3. Влияние ингаляций синглетного кислорода на активность окислительно-восстановительных ферментов крови и органов крыс.....	209
3.2.3. Хроническое воздействие активных форм кислорода и азота на каталитические свойства оксидоредуктаз здоровых крыс.....	211
3.2.3.1. Длительное воздействие ингаляций NO на особенности регуляции оксидоредуктаз крови и органов крыс.....	211
3.2.3.2. Влияние хронического применения ингаляций синглетного кислорода на каталитические свойства окислительно-восстановительных ферментов.	236
3.3. Состояние ферментов биотрансформации крови и тканей под воздействием активных форм кислорода и азота при комбинированной термической травме.....	248
3.3.1. Особенности свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты крыс при комбинированной термической травме под влиянием активных форм кислорода и азота.....	248
3.3.2. Особенности регуляции оксидоредуктаз крыс с ожогом под влиянием активных форм кислорода и азота.....	274
3.3.3. Механизм действия динитрозильных комплексов железа на активность альдегиддегидрогеназы.....	304
3.3.4. Влияние ингаляций синглетного кислорода на биохимические показатели крови больных с термической травмой.....	309
3.4. Концентрация нитритов и нитратов в крови и органах крыс под воздействием оксида азота в норме и при ожоге.....	315
3.5. Характеристика морфологических изменений, развивающихся в легких при комбинированной термической травме на фоне ингаляций оксида азота и синглетного кислорода, и при их системном хроническом применении....	330
3.5.1. Морфологические изменения, развивающиеся в легких при термической травме.....	330
3.5.2. Морфологические изменения ткани легких на фоне системного хронического применения оксида азота в различных концентрациях.....	337
3.5.3. Морфологические изменения ткани легких на фоне системного хронического применения ингаляций газовой смеси, содержащей синглетный кислород.....	342
3.5.4. Структурные изменения легких крыс с комбинированной термической травмой при ингаляции оксида азота.....	343
3.5.5. Структурные изменения легких крыс с комбинированной термической травмой при ингаляции газовой смеси, содержащей синглетный кислород.	344
3.6. Оценка взаимосвязи биохимических показателей окислительного, энергетического метаболизма и системы биотрансформации крови и органов в формировании ответа организма на комбинированную термическую травму.....	347
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....</b>	<b>364</b>
<b>ВЫВОДЫ.....</b>	<b>370</b>
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>	<b>373</b>

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АДГ – алкогольдегидрогеназа  
 АДГпр – прямая реакция алкогольдегидрогеназы  
 АДГобр – обратная реакция алкогольдегидрогеназы  
 АлДГ – альдегиддегидрогеназа  
 АО – антиоксиданты  
 АОС – антиоксидантная система  
 АФА – активные формы азота  
 АФК – активные формы кислорода  
 Гл-6-фДГ – глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа  
 ГП – глутатионпероксидаза  
 ГР – глутатионредуктаза  
 ГТ – глутатион-S-трансфераза  
 ДНКЖ – динитрозильные комплексы железа  
 ДХФИФ – дихлорфенолинфенол  
 КБЭР – коэффициент баланса энергетических реакций  
 КС – карбонильный стресс  
 КТТ – комбинированная термическая травма  
 ЛДГ – лактатдегидрогеназа  
 ЛДГпр – прямая реакция лактатдегидрогеназы  
 ЛДГобр – обратная реакция лактатдегидрогеназы  
 ЛПНП – липопротеины низкой плотности  
 МГ – метилглиоксаль  
 МДА – малоновый диальдегид  
 МСМ – молекулы средней массы  
 МФК – митохондриальный ферментный комплекс  
 НС – нитрозативный стресс  
 ОАА – общая антиокислительная активность  
 ОБ – ожоговая болезнь  
 ОМБ – окислительная модификация белков  
 ОС – окислительный стресс  
 ПЗГ – продукты завершеного гликирования  
 ПОЛ – перекисное окисление липидов  
 СДГ – сукцинатдегидрогеназа  
 СК – синглетный кислород  
 СКТ – синглетно-кислородная терапия  
 СОД – супероксиддисмутаза  
 СРО – свободнорадикальное окисление  
 ТБК – тиобарбитуровая кислота  
 ФАД – флавинадениндинуклеотид  
 ФМН – флавинмононуклеотид  
 ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота  
 ЭИ – эндогенная интоксикация  
 ЭТЦ – электронно-транспортная цепь  
 GSH – глутатион восстановленный  
 GSSG – глутатион окисленный  
 Hb – гемоглобин  
 NAT – N-ацетилтрансфераза  
 NO – монооксид азота  
 иNO – ингаляционный оксид азота  
 NOS – синтаза окиси азота  
 NOX – НАДФН-оксидаза

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность проблемы.** Исследование механизмов функционально-биохимической перестройки организма, попадающего в особые или экстремальные условия, а также разработка методов, позволяющих повысить устойчивость организма к пребыванию в таких условиях, является фундаментальной медико-биологической проблемой. Термическая травма (ТТ) – один из наиболее распространенных видов бытового травматизма, учащающийся в условиях обострения военной обстановки. Комбинированная термическая травма (КТТ), включающая термоингаляционное воздействие и ожоги кожных покровов, встречается у 58% пострадавших, поступающих в ожоговые центры РФ [60; 186]. Наличие ингаляционной травмы отягощает течение КТТ, особенно в первые сутки [260], вызывая развитие легочных осложнений, в итоге – летальный исход в 50% случаев [69]. Активацию свободно-радикального окисления (СРО), в частности, перекисного окисления липидов (ПОЛ), принято считать одним из главных механизмов эндогенной интоксикации (ЭИ) [321; 597], который имеет важное биохимическое значение в развитии ожоговой болезни (ОБ) [12; 25; 145; 680; 765; 795].

Ведущую роль при адаптации организма к ЭИ и нарушению окислительного и энергетического метаболизма при ТТ играют биохимические метаболические механизмы, обезвреживающие токсические вещества экзогенного и эндогенного происхождения [25]. Эти механизмы включают энзиматическую биотрансформацию ксенобиотиков, конъюгацию реактивных метаболитов и гидрофильных соединений и антиоксидантную защиту, объединяющую антирадикальные и антиперекисные механизмы [428]. Комплекс этих реакций, присущий всем живым организмам, рассматривается как универсальная биохимическая система естественной детоксикации, нарушение согласованной работы которой является одним из общих механизмов ЭИ и приводит к развитию патологических процессов [264; 422]. При функционировании системы возможно образование

реакционноспособных активных форм кислорода (АФК) и азота (АФА) [25; 167; 213], результатом этого может быть развитие окислительного стресса (ОС) [36; 420]. Несмотря на многочисленные исследования, посвященные процессам детоксикации и пероксидации, в немногих работах они считаются как согласованно функционирующие звенья единой системы [422].

Поэтому, несмотря на имеющиеся результаты в анализе биохимических механизмов ОБ [29; 137; 241; 578], остается актуальным проведение дальнейших исследований, для более точной и полной оценки роли ферментов немикросомальной системы биотрансформации в формировании ОС и карбонильного стресса (КС) биологических систем под влиянием АФК и АФА и их взаимосвязи при ТТ. Это может являться биохимической основой для обоснования эффективных методов лечения ТТ с учетом её тяжести и площади поражения.

Кроме того, изучение молекулярных механизмов развития заболеваний является одной из самых динамично развивающихся областей молекулярной медицины [29; 428]. В условиях чрезмерного образования токсических продуктов при ОБ развивается недостаточность естественной системы детоксикации [82], приводящая к возникновению гипоксии органов вплоть до полиорганной недостаточности [435; 695]. Следовательно, при ОБ изменения оксидоредуктаз, регулирующих окислительный и энергетический метаболизм, биотрансформацию высокотоксичных метаболитов, могут играть ведущую роль [97; 439]. Важное значение при этом следует отвести ферментам антиоксидантной защиты (супероксиддисмутазе (СОД), каталазе, глутатионредуктазе (ГР)) и энергообеспечения клеток (лактатдегидрогеназе (ЛДГ), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназе (Гл-6-фДГ)), ферментам дыхательной цепи митохондрий (сукцинатдегидрогеназе (СДГ) и цитохром *c* оксидазе) и детоксикационных систем (альдегиддегидрогеназе (АлДГ), алкогольдегидрогеназе (АДГ)). Роль данных энзимов в механизмах регуляции энергетического метаболизма и биотрансформации при ТТ окончательно не установлена.

В ряде работ [25; 29; 69; 295; 296; 387; 616] представлены отдельные сведения о состоянии процессов СРО, антиоксидантной системы (АОС) и интенсивности образования в организме оксида азота (NO) при ожогах. Однако полученные данные противоречивы, часто ограничены отдельными токсикантами, в них отсутствует представление о роли и взаимосвязи АОС как совокупности про- и антиоксидантных процессов и системы NO, и они не имеют системного подхода в оценке ОС. Недостаточно изучены биохимические механизмы лечебных технологий, используемых при ТТ [25]. В связи с этим исследования, направленные на выявление особенности регуляции оксидоредуктаз крови и тканей в норме и при патологии (на модели ТТ) в условиях воздействия АФК и АФА представляют научно-практический интерес. Кроме того, до сих пор не разработаны биохимические прогностические и диагностические критерии развития ранних осложнений при ТТ.

NO является как средством терапии, так и мишенью для фармакологического воздействия [296], в том числе в условиях гипоксии и ишемии. В медико-биологических исследованиях проблема увеличения резистентности организма при гипоксии и ишемии очень актуальна, так как эти состояния сопровождают течение многих заболеваний, в том числе ОБ [296; 545; 708]. Несмотря на большое количество работ, роль NO в системной регуляции гомеостаза клеток и тканей до сих пор вызывает научные дискуссии [296; 393; 394], а выявление биохимических механизмов действия NO требует дальнейшего анализа с целью обоснования возможности и практической целесообразности их фармакологической регуляции [296]. В настоящее время перспективными, но малоизученными являются ингаляции синглетного кислорода (СК) в условиях гипоксии. Таким образом, изучение особенностей окислительного и энергетического метаболизма, лежащих в основе нарушения функций органов и систем в ранних периодах ОБ, и их взаимосвязи с активностью оксидоредуктаз является важной и актуальной научной проблемой.

Вышеизложенное послужило основанием для выбора цели диссертации. **Цель исследования:** установить роль оксидоредуктаз антиоксидантной защиты и немикросомального окисления системы биотрансформации в энзиматических механизмах регуляции метаболической адаптации организма, а также под воздействием АФК и АФА в норме и при КТТ, разработать на этой основе оптимальные схемы использования АФК и АФА для коррекции гипоксических расстройств и нарушения системы детоксикации при ожоге.

Для реализации этой цели были поставлены следующие **задачи:**

1. Выявить закономерности регуляции оксидоредуктаз антиоксидантной защиты и немикросомального окисления системы биотрансформации при экспериментальной КТТ на клеточном и тканевом уровнях.
2. Изучить топохимию, каталитические и кинетические свойства, субстратную специфичность, активаторы и ингибиторы АлДГ крови и органов в норме и при КТТ.
3. Выявить диагностическую значимость определения активности оксидоредуктаз как показателя нарушений метаболических процессов при экспериментальной КТТ и значение их функционального взаимодействия с биохимическими показателями на разной стадии ОБ в формировании гипоксии и эндогенной интоксикации.
4. Обосновать выбор концентрации и условий введения АФК и АФА для физиологического функционирования оксидоредуктаз в условиях *in vitro*, *in vivo* и хронического эксперимента.
5. Раскрыть молекулярные механизмы регуляции активности ферментов немикросомального окисления и антиоксидантной защиты под влиянием NO, СК в норме и при КТТ.
6. Привести биохимическое обоснование оптимальных схем использования СК, NO для коррекции гипоксических расстройств и нарушения активности ферментов биотрансформации у экспериментальных животных с КТТ.

7. Доказать эффективность воздействия ингаляций СК на каталитические свойства ферментов немикросомального окисления и антиоксидантной защиты при ОБ в клинических условиях.

Работа выполнена в рамках государственного задания (ГЗ) ФГБУ ПФМИЦ Минздрава России «Изучение механизмов молекулярной регуляции ферментов мембран клеток крови при ТТ», утвержденного В.И. Скворцовой от 24.12.2011 сроком на 2012-2014 гг. и ГЗ-06 «Исследование молекулярных эффектов действия биорадикалов и экспериментально-клиническая разработка технологии их использования в регенеративной медицине» в рамках ГЗ, утвержденного С.А. Краевым от 29.12.2014 на 2015-2017 гг.

**Научная новизна.** Разработана и экспериментально обоснована новая научная концепция участия оксидоредуктаз немикросомального окисления и антиоксидантной защиты в формировании окислительного, карбонильного и нитрозативного стресса при комбинированной термической травме, обусловленного особенностями регуляции оксидоредуктаз и зависящего от ткани/органа и сроков после ожога, которая обогащает научные представления о биохимических механизмах развития ожоговой болезни и позволяет выявить качественно новые закономерности исследуемого явления.

Впервые определен характер ингибирования оксидоредуктаз в крови и субклеточных фракциях органов при КТТ. Изучены закономерности функционирования АлДГ крови и органов при КТТ, согласно которым АлДГ находится в эритроцитах в трех надмолекулярных формах (матриксная, лабильно и прочносвязанная с мембраной), проявляет наибольшую активность при использовании в качестве субстратов салицилового и глутарового альдегидов, выявлена приобретенная энзимопатия АлДГ после КТТ, о чем свидетельствовал дефицит АлДГ спустя 6 месяцев после ТТ, в I и II поколениях крыс с КТТ.

*In vitro*, *in vivo* и в условиях хронического эксперимента впервые установлены молекулярные механизмы регуляции активности ферментов

немикросомального окисления и антиоксидантной защиты под влиянием физико-химических факторов (NO, динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ), СК), направление и степень влияния которых определяются используемой концентрацией АФК или АФА, имеют целенаправленный и органоспецифический характер.

Впервые наблюдались оптимальные биохимические сдвиги энергетического и окислительного метаболизма крови при использовании ингаляций NO в концентрации 20 ppm, ингаляций СК при мощности генератора 100% и ДНКЖ в концентрации 0,3 мкмоль/л продолжительностью процедур 10 дней, которые можно считать терапевтическими для коррекции гипоксических расстройств и нарушения активности ферментов биотрансформации при КТТ.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Работа представляет собой фундаментальное исследование с перспективным практическим выходом. Полученные данные углубляют представления о роли оксидоредуктаз антиоксидантной защиты и немикросомального окисления системы биотрансформации в молекулярно-биохимических механизмах метаболической адаптации организма при КТТ и об особенностях их регуляции под воздействием АФК и АФА. Эта информация имеет важное значение для разработки инновационных лечебных технологий, основанных на терапии АФК и АФА, которые могут быть применены при многих патологических состояниях, сопровождающихся окислительным стрессом и энергодефицитом.

По результатам исследования внедрены способы диагностики детоксикационной функции печени при ожогах в эксперименте (патент на изобретение № 2361214) [360], оценки степени тяжести синдрома эндогенной интоксикации у больных с термической травмой (патент на изобретение № 2369871) [361], оценки динамики метаболизма крови у больных с термической травмой (патент на изобретение № 2392865) [362]. Разработанные устройства для насыщения крови газами (патент на полезную

модель № 167710) [282], для обеспечения регенерации повреждений кожных покровов в эксперименте (патент на полезную модель № 167633) [152] и для экспериментального моделирования термической травмы кожи (патент на полезную модель № 179126) [283] нашли применение в экспериментальной биологии и медицине.

Определение активности оксидоредуктаз имеет важную диагностическую значимость как показатель нарушений окислительного и энергетического метаболизма при альтерации организма на модели КТТ.

Впервые выявлен благоприятный эффект применения 10-дневного курса ингаляций СК (100% интенсивности) на окислительно-восстановительный баланс крови больных с КТТ, заключающийся в: нормализации концентрации лактата, повышении активности АлДГ, ЛДГ и коэффициента баланса энергетических реакций (КБЭР), уменьшении малонового диальдегида (МДА) плазмы, активации общей антиоксидантной активности (ОАА), СОД и каталазы, при этом рост активности ферментов обусловлен повышением их сродства к субстратам реакции, максимальной скорости накопления продукта реакции и их каталитической эффективности.

Материалы диссертационной работы внедрены в научно-исследовательскую работу и учебный процесс кафедр ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» и Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Формирование ОС, КС и НС при КТТ, имеющее комплексный механизм, определяется состоянием, особенностями регуляции, характером ингибирования оксидоредуктаз системы биотрансформации, их взаимодействием с показателями окислительного и энергетического метаболизма и зависит от периода ОБ.
2. Активные формы кислорода и азота оказывают ингибирующее / активирующее влияние на состояние и особенности регуляции оксидоредуктаз системы биотрансформации дозозависимо.

3. Применение газообразного NO в концентрации 20 ppm, СК при мощности генератора 100% и ДНКЖ в концентрации 0,3 мкмоль/л продолжительностью 10 дней позволяет поддерживать функционирование оксидоредуктаз антиоксидантной защиты и немикросомального окисления системы биотрансформации в норме и ликвидировать окислительный, карбонильный и нитрозативный стресс при комбинированной термической травме.

4. Воздействие NO (20 ppm) и СК на протяжении 30 суток вызывает рост прооксидантного статуса, АОС, умеренную активацию АлДГ и АДГ, стимуляцию работы митохондрий, гипогликемический эффект, которые нормализуются через 60 суток после отмены воздействий АФК. Длительные ингаляции NO в высоких концентрациях (50 ppm и 100 ppm) ингибируют окислительный и энергетический метаболизм крови и органов, который не восстанавливается после прекращения воздействия 100 ppm NO.

5. Биохимические закономерности воздействия экзогенных АФК, АФА заключаются у животных с КТТ в стимуляции работы дыхательной цепи митохондрий, ликвидации ОС, НС и КС, у больных с ТТ под влиянием СКТ – в нормализации концентрации лактата, уменьшении МДА, росте КБЭР, каталитических и кинетических свойств окислительно-восстановительных ферментов системы биотрансформации.

**Апробация работы.** Основные положения работы доложены и обсуждены на: I, II, III Съезде комбустиологов России (Москва, 2005, 2008, 2010), IV Съезде Российского общества биохимиков и молекулярных биологов (Новосибирск, 2008), IV, V Украинско-русской научно-практической конференции с международным участием «Озон в биологии и медицине» (Крым, Мисхор, 2008, Одесса, 2010), Российской научно-практической конференции «Новые технологии в травматологии, ортопедии и военно-полевой хирургии» (Новосибирск, 2008), VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Озон, активные формы кислорода и методы интенсивной терапии в медицине» (Н.

Новгород, 2009), VIII, X Всероссийской университетской научно-практической конференции молодых ученых по медицине (Тула, 2009, 2011), Научно-практической конференции «Актуальные вопросы термических поражений» (Санкт-Петербург, 2010), Всероссийской конференции с международным участием «Современные аспекты лечения термической травмы» (Санкт-Петербург, 2011), Научно-практической конференции «Актуальные вопросы комбустиологии, травматологии, ортопедии и нейрохирургии» (Н.Новгород, 2011), IX, X, XI Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Озон, активные формы кислорода, оксид азота и высокоинтенсивные физические факторы в биологии и медицине» (Н.Новгород, 2013, 2016, 2018), International Symposium «Gasotransmitters: Physiology and Pathophysiology» (Kazan, 2014), Республиканской научно-практической конференции «Кислород и свободные радикалы» (Гродно, 2014), VIII национальной научно-практической конференции с международным участием «Активные формы кислорода, оксид азота, антиоксиданты и здоровье человека» (Смоленск, 2014), Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Ожоги и медицина катастроф» (Уфа, 2014), V Съезде биофизиков России (Ростов-на-Дону, 2015), Межрегиональной научно-практической конференции с международным участием «Современные технологии в хирургии и интенсивной терапии» (Саранск, 2015), Всероссийской научной конференции «Механизмы устойчивости и адаптации биологических систем к природным и техногенным факторам» (Киров, 2015), V Съезде физиологов СНГ и V Съезде биохимиков России (Дагомыс, 2016), VI Азиатско-Европейской научно-практической конференции «Озон и другие медицинские газы в биологии и терапии» (Крым, 2016), Научно-практической конференции с международным участием «Современные аспекты лечения термической травмы» (Санкт-Петербург, 2016), Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Термические поражения и их последствия» (Ялта, 2016), XI, XII,

XIII международной научно-технической конференции «Актуальные вопросы биологической физики и химии» (Севастополь, 2016, 2017, 2018), XX, XXI Форуме «Национальные дни лабораторной медицины России», (Москва, 2016, 2017), международной научной конференции по биоорганической химии «XII чтения памяти академика Ю.А. Овчинникова» и VIII Российском симпозиуме «Белки и пептиды» (Москва, 2017).

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 88 работ, из них 51 – в изданиях, рекомендованных Перечнем ВАК Минобрнауки РФ, 2 монографии, получено 6 патентов РФ.

**Объем и структура диссертации.** Работа изложена на 465 страницах машинописного текста; состоит из введения, 3 глав: обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований и их обсуждения; заключения, выводов, и списка литературы. Текст диссертации содержит 116 таблиц и 105 рисунков. Библиографический указатель включает 896 источников, из которых 442 иностранных.

**Личный вклад соискателя.** В исследованиях, которые положены в основу диссертационной работы, соискатель лично формулировал проблему, подбирал методы исследования, осуществлял планирование экспериментов, формулировал выводы, все результаты диссертационного исследования набраны и обработаны лично соискателем.

## **Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ**

### **1.1. Метаболическая адаптация организма в норме и при патологии**

При разнообразных изменениях физиологического состояния организма в тканях и органах могут возникать гипоксические изменения, недостаточность биологического окисления и энергетический дефицит [128; 157]. Показано, что развитие ЭИ, нарушение баланса про- и антиоксидантных систем в значительной мере зависит от активности ферментов системы биотрансформации [428].

#### **1.1.1. Система биотрансформации в тканях и органах (биохимические аспекты)**

Биотрансформация – процесс, катализируемый ферментами детоксикации с различной субстратной специфичностью. Биотрансформация состоит из трех фаз: I – активация, II – детоксикация и III – выведение. I фаза включает метаболические реакции превращения (окисление, восстановление, гидролиз) токсических веществ в более полярные метаболиты, протекающие с затратой энергии [297]. Основные ферменты I фазы биотрансформации – семейство цитохрома P450 (CYP1-CYP3) [176; 421]. Прямое отношение к метаболизму ксенобиотиков имеют шесть цитохромов P450 (CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1, CYP3A4) [208]. Из микросомальных ферментов эпоксидгидролаза обеспечивает детоксикацию высокоактивных эпоксидов. В I фазе также участвуют ферменты немикросомального происхождения (АДГ, АлДГ, моно- и диаминооксидазы, ксантинооксидаза и др.), содержащиеся в растворимой фракции гомогенатов органов [108; 307]. Превращение молекул на I фазе биотрансформации уменьшает их растворимость в липидах. Особенности ферментов I фазы: избирательная локализация, высокая реакционная способность, многообразие путей метаболизма [297].

II фаза биотрансформации включает реакции глюкуронидации, сульфатирования, ацетилирования, метилирования, конъюгации с

глутатионом (синтез меркаптуровой кислоты) и с аминокислотами (глицин, таурин, глутаминовая кислота). Кофакторы этих реакций реагируют с функциональными ферментами I фазы [197]. К ферментам II фазы относятся: ариламинацетилтрансфераза, метилтрансфераза, сульфотрансфераза, УДФ-глюкуронозилтрансфераза, глутатион-S-трансфераза (ГТ), ГР, сульфотрансфераза, хинон-редуктаза, N-ацетилтрансфераза 1 (NAT1) и N-ацетилтрансфераза 2 (NAT2), осуществляющие N- и O-ацетилирование ароматических и гетероциклических аминов и гидразинов и другие [307; 434]. Химическая модификация липофильного ксенобиотика ферментами II фазы детоксикации увеличивает его гидрофильные свойства. Энзимы II фазы обладают слабой субстратной специфичностью. К соединениям, подвергающимся глюкуронированию, относят простые и сложные эфиры, соединения, содержащие карбоксильные, тиольные и карбонильные группы, а также нитрогруппы. Спирты, фенолы после реакции O-глюкуронидации подвергаются и сульфатной конъюгации [428]. Конъюгации с глутатионом подвергаются эпоксиды, ареноксиды, гидроксилламины [192; 396]. Для детоксикации ксенобиотиков клеткой используется перекись водорода, которая утилизируется внутри пероксисом [9; 579].

На III фазе биотрансформации происходит выведение из организма продуктов детоксикации через легкие, почки и желудочно-кишечный тракт [197] с помощью семейства трансмембранных Р-гликопротеинов. Субстраты гликопротеина Р<sub>1</sub> – сердечные гликозиды, блокаторы кальциевых каналов, статины, цитостатики, противовирусные препараты [166].

Следовательно, в организме существует многокомпонентная система детоксикации, направленная на защиту от токсических агентов эндо- и экзогенного происхождения и включающая системы биотрансформации, антиоксидантной и иммунологической защиты, экскреторные органы и транспортеры ксенобиотиков [307]. Способность органов и тканей утилизировать токсины зависит от набора и активности ферментов биотрансформации [428], каталитические свойства которых определяются

генетической изменчивостью структуры их генов [117]. Ферментативная система метаболизма ксенобиотиков является универсальным механизмом, поддерживающим внутренний гомеостаз [56; 372].

Таким образом, ведущую роль в адаптации организма к действию токсических веществ играют метаболические механизмы, включающие преимущественно три группы реакций: энзиматическую биотрансформацию при участии цитохром Р450-зависимых монооксигеназ, конъюгацию реактивных метаболитов и гидрофильных соединений и антиоксидантную защиту, объединяющую антирадикальные и антиперекисные механизмы. Комплекс этих реакций, присущий всем живым организмам, рассматривается как универсальная биохимическая система естественной детоксикации. Нарушение согласованного процесса детоксикации является одним из общих механизмов токсичности и приводит к развитию патологических процессов [422]. Принципиально, что в процессе функционирования системы возможно образование более реакционноспособных метаболитов по сравнению с исходными соединениями, а также образование АФК и АФА [71; 264; 265].

### **1.1.2. Роль активных форм кислорода и свободнорадикального окисления в физиологии и патологии клетки**

С физико-химической точки зрения АФК – свободные радикалы с неспаренным электроном на внешней электронной оболочке. На сегодняшний день установлена и научно обоснована значимость СРО и АОС в приспособлении организма к действию различных стрессовых факторов [25; 54; 55; 164; 213]. В таблице 1 приведены данные о наиболее важных видах АФК и АФА. Средняя концентрация супероксидного анион-радикала, СК, гидроксильного и пероксидного радикалов, перекиси водорода, пероксидного иона, гипохлорита, обладающих высокой окислительной активностью, в тканях человека составляет  $10^{-8}$  мМ [167].

В биологических системах выделяют радикалы 3 типов в зависимости от происхождения и биологического действия: 1) первичные (индуцирующие), обладающие регуляторным действием, генерируются при

одноэлектронном окислении молекул как естественные продукты обмена веществ, принимают участие в различных биохимических процессах, не обладают мембрано-токсичностью; 2) вторичные образуются из первичных в результате развития цепных реакций ПОЛ, оказывают на клетку мутагенное и цитотоксическое действие, вызывают повреждение нуклеиновых кислот, инактивацию ферментов, продолжают реакции ПОЛ; 3) третичные образуются вследствие соединения вторичных радикалов с молекулами антиоксидантов (АО) и легко окисляющихся соединений, обладают малой реакционной активностью [25; 264; 265].

Таблица 1

## Активные формы кислорода и азота [34]

Соединения	Название	Формула	Относительная активность	Полупериод существования, с
Радикальные	<i>Супероксид анион</i>	$\bullet\text{O}_2^-$	0	$10^{-6}$
	<i>Гидроперокси-радикал</i>	$\text{HO}_2\bullet$	1	$10^{-8}$
	<i>Гидроксид-радикал</i>	$\text{OH}\bullet$	$10^7$	$10^{-9}$
	<i>Алкоксил-радикал</i>	$\text{RO}\bullet$	$10^4$	$10^{-6}$
	<i>Перокси-радикал</i>	$\text{ROO}\bullet$	1	$10^{-2}$
	<i>NO-радикал</i>	$\text{NO}\bullet$	Не измерена	1-100
Нерадикальные	<i>Пероксид водорода</i>	$\text{H}_2\text{O}_2$	0	10-100
	<i>Синглетный кислород</i>	$^1\text{O}_2$	1	$10^{-6}$
	<i>Гипохлорит-анион</i>	$\text{OCl}^-$	$10^3$	
	<i>Пероксинитрит</i>	$\text{ONOO}^-$	$10^2$	0,05-1

АФК и АФА принадлежит детоксицирующая роль в неспецифическом иммунитете макрофагов и микросомальном окислении химических соединений, медиаторная роль в регуляции метаболизма аутокринными и паракринными механизмами, участие в поддержании вазоконстрикторного-вазодилататорного баланса, обуславливающего органный кровоток [55; 167; 235; 270]. Однако все АФК обладают высокой цитотоксичностью. Одним из важнейших следствий повышенного образования АФК является избыточная активация ПОЛ, одного из разновидностей СРО [54; 429]. СРО – сложный, многоступенчатый физиологический процесс, обеспечивающий регуляцию метаболизма углеводов, белков, липидов, нуклеиновых кислот, лежащий в основе пластического и энергетического обеспечения функций клетки и организма в целом [453]. Реакции СРО в организме оказывают влияние на его адаптивные особенности, определяют возможность развития патологии.

При ПОЛ окислительным превращениям подвергаются нейтральные жиры, холестерин, полиненасыщенные жирные кислоты [423]. ПОЛ может включать стадии неферментативного аскорбатзависимого аутоокисления, активируемые металлами с переменной валентностью, и ферментативные реакции (НАДФН-зависимые), приводя к образованию свободных радикалов [42; 124]. По первому пути генерация перекисей липидов происходит в мембранах, а по второму – преимущественно в эндоплазматическом ретикулуме [21; 39; 141; 217]. Процессы ПОЛ можно условно подразделить на 3 последовательных этапа: зарождение (инициирование), развитие (продолжение и разветвление) цепных реакций и обрыв цепей [577].

Образование АФК и инициирование цепи:

1)  $O_2 + Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+} + O_2^-$ ; 2)  $O_2 + O_2 + 2H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2$  (СОД); 3)  $O_2 + O_2 + 2H^+ \rightarrow {}^1O_2 + H_2O_2$  (спонтанная дисмутация); 4)  $H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow OH^- + Fe^{3+} + \cdot OH$  (реакция Фентона); 5)  $H_2O_2 + O_2^- \rightarrow OH^- + O_2 + \cdot OH$  (реакция Хабера – Вейсса); 6)  $O_2^- + RH \rightarrow R\cdot + HO_2^-$ ; 7)  $\cdot OH + RH \rightarrow R\cdot + H_2O$  [99]

Продолжение и разветвление цепи:

8)  $R\cdot + O_2 \rightarrow RO_2\cdot$ ; 9)  $RO_2\cdot + RH \rightarrow ROOH + R\cdot$ ; 10)  $ROOH + Me^n \rightarrow RO\cdot + Me^{n+1} + OH^-$ ; 11)  $RO\cdot + RH \rightarrow ROH + R\cdot$

Обрыв цепи:

12)  $R\cdot + R\cdot \rightarrow MP$ ,  $RO_2\cdot + R\cdot \rightarrow MP$ ,  $RO_2\cdot + RO_2\cdot \rightarrow MP$ ; 13)  $RO_2\cdot(R\cdot) + ApH \rightarrow ROOH(RH) + Ap\cdot$ ; 14)  $RO_2\cdot(R\cdot) + Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+} + RH$ ; 15)  $ROOH + GSH \rightarrow ROH + GSSG + H_2O$  (GSH – пероксидаза)

В процессах ПОЛ присутствуют реакции антиоксидантных радикалов:

$Ap\cdot + RO_2\cdot \rightarrow MP$ ;  $Ap\cdot + Ap\cdot \rightarrow MP$ ;  $Ap\cdot + RH \rightarrow ApH + R\cdot$ ;  $Ap\cdot + ROOH \rightarrow ApH + RO_2\cdot$

*Условные обозначения:* жирным шрифтом выделены основные продукты реакции;  $O_2^-$  – супероксидный анион – радикал;  $H_2O_2$  – перекись водорода;  $\cdot OH$  – гидроксильный радикал;  $R\cdot$  – липидный алкильный радикал;  $RO_2\cdot$  – липидный пероксидный радикал;  $ROOH$  – гидроперекись липида;  $RO\cdot$  – алкоксильный радикал;  $ApH$  – антиоксидант;  $Ap\cdot$  – радикал антиоксиданта;  $GSH$ ,  $GSSG$  – восстановленный и окисленный глутатион;  $GSH$  – пероксидаза – глутатионпероксидаза.  $MP$  – молекулярный продукт [99].

Цепь обрывается в результате взаимодействия свободных радикалов с АО, ионами металлов переменной валентности или друг с другом [235; 323]. Последняя реакция сопровождается свечением (хемилюминесценцией).

Интенсивность "сверхслабого" свечения отражает скорость липидной пероксидации в изучаемом биологическом материале, и измерение хемилюминесценции часто используется при изучении ПОЛ в различных объектах [190]. К методам изучения реакций с участием радикалов также относят электронный парамагнитный резонанс и ингибиторный анализ [390].

К продуктам реакций ПОЛ относятся:

1. Нестабильные промежуточные продукты радикальной природы: АФК, алкильные, алкоксильные, пероксильные радикалы; 2. Первичные продукты (гидроперекиси, диеновые конъюгаты, кетодиены, эндоперекиси), возникающие на стадии продолжения цепи; 3. Вторичные продукты, образующиеся при окислительной деструкции и включающие карбонильные продукты: алканалы, алкены, гидросиалкены, МДА, триеновые конъюгаты, битирозин; 4. Конечные продукты, формирующиеся в результате необратимого ковалентного связывания МДА и карбонильных продуктов с пептидами, белками; полимерные соединения (основания Шиффа); насыщенные низкомолекулярные углеводороды (этан, гексан, пентан) [99].

В результате развития реакций ПОЛ образуются разнообразные продукты, в том числе спирты, кетоны, альдегиды и эфиры. Продукты ПОЛ – предшественники синтеза простагландинов, тромбоксанов, простаглицина, лейкотриенов и липоксинов [286].

Таким образом, ПОЛ включает в себя активацию и деградацию липидных радикалов, встраивание в липиды предварительного активированного молекулярного кислорода, реорганизацию двойных связей в сопряженных двойных связях и, как следствие, деструкцию мембранных липидов и самих биомембран [99; 191; 390].

АФК могут вызывать окислительную деструкцию в аминокислотах и белках, приводя к трем вариантам изменения их физико-химических свойств: фрагментации, агрегации и протеолизу [99; 418]. ПОЛ и гликирование белков относятся к параметаболическим реакциям. Под СРО белков понимают их посттрансляционную ковалентную модификацию, которая важна для ряда

физиологических и биохимических процессов, таких как старение, тканевой и энергетический обмен [17]. При агрегации формируются ковалентносвязанные белковые формы (димеры, тримеры, тетрамеры). 90% агрегатов возникает в результате битирозинообразования, при этом битирозин представляет собой ковалентный бифенол, образованный радикалами 2-х тирозинов или тирозила и тирозина [17; 99; 107].

Существуют следующие механизмы окислительной модификации белков (ОМБ): 1) конъюгация липидных пероксидов с аминокислотными остатками гистидина, цистеина и лизина в белках [146; 257]; 2) окисление при участии АФК с образованием карбонильных производных, а также дисульфидов Cys-S-S-Cys, цистеин-сульфеновой (SO), -сульфиновой (SO<sub>2</sub><sup>-</sup>) или -сульфоновой (SO<sub>3</sub><sup>-</sup>) кислот [146; 257], сульфоксида метионина (MetSO) [17]. К ОМБ относят гликирование и гликоксидацию лизиновых и аспарагиновых остатков [107; 656]. Процесс СРО белков, так же, как и ПОЛ, носит цепной характер. Повреждение полипептидной цепи включает 16 последовательных стадий. Конечными продуктами ОМБ являются карбонильные фрагменты полипептидной цепи, определяемые обычно в виде 2,4-динитрофенилгидразонов [17; 444].

Атаке АФК подвергаются в первую очередь белки плазматических мембран [522]. АФК и образующиеся при ПОЛ продукты действуют на белки как окислители, взаимодействующие с SH-, NH<sub>2</sub>- и СН<sub>3</sub>-группами аминокислотных остатков [99; 632]. Белки могут улавливать от 50% до 75% свободнорадикальных соединений, и в отличие от продуктов ПОЛ, карбонильные производные белков плазмы крови стабильнее, более специфичны, что делает их высокоселективными маркерами интенсивности ОС [124; 570]. Кетон-динитрофенилгидразоны – ранние маркеры ОМБ, альдегид-дегидрофенилгидразоны — более поздние [17; 196].

ОМБ – одна из составляющих убиквитин-зависимого протеолиза [17; 388]. Элиминация карбонилированных белков может идти 2 путями: с помощью протеасом и протеаз [17]. Биохимическими последствиями ОМБ

являются: утрата/приобретение ферментативной активности; потеря функций белка; агрегация белков; модификация факторов транскрипции генов [17; 257; 803; 866]. Альдегиды, образованные при ОМБ, чаще взаимодействуют с остатками цистеина или гистидина киназ, приводя к утрате их активности. Влияние альдегидов на процесс воспаления, индукцию апоптоза может быть детерминировано через сигнальные киназы по механизму loss- and gain-of-function modifications [17; 257; 556]. При взаимодействии аминокислот с продуктами ПОЛ образуются аддукты Михаэля [107; 501; 631].

АФК образуются в биологических системах в процессе дыхательного взрыва фагоцитирующих клеток, ПОЛ [217], метаболизма арахидоновой кислоты [181], аутоокисления катехоламинов [245; 246], реакций, катализируемых железом [90; 167]. Радикалы могут возникать при воздействии физико-химических факторов, токсических веществ и патологических состояниях [198]. Генераторами АФК в клетке являются пероксисомы, ряд цитохром-зависимых оксигеназ гладкого эндоплазматического ретикулула. В плазмалемме макрофагов и эндотелиоцитов существует НАД(Ф)Н-оксидазная система, продуцирующая супероксид анион в ходе иммунного и воспалительного ответа:  $2O_2 + \text{НАДФН} \rightarrow O_2^{\bullet-} + \text{НАДФ}^+ + H^+$  [264; 265]. Основными источниками  $\bullet O_2^-$  являются ксантиноксидаза, микросомальные монооксигеназы [136]. Активированные фагоциты продуцируют СК  $^1O_2$  [272].  $^1O_2$  образуется и в реакциях фотоокисления в присутствии фотосенсибилизаторов: флавины, гематопорфирин, а также при дисмутации супероксидных радикалов [8; 334]. Есть ферменты с единственной функцией – генерацией АФК, так NOX восстанавливает молекулярный  $O_2$  во внеклеточном пространстве до  $\bullet O_2^-$  [167; 472]. Флавопротеины в аэробных условиях *in vitro* образуют или утилизируют АФК [19; 80]. В присутствии ионов переходных металлов перекись водорода может давать наиболее цитотоксичный среди АФК гидроксильный радикал [54]. С белками  $OH\bullet$  образует гидропероксиды, с липидами – перекисные соединения [139; 140].

Основные механизмы генерации АФК связаны с нарушениями функционирования электронно-транспортных цепей (ЭТЦ) митохондрий.

### **1.1.3. Механизмы образования активных форм кислорода в митохондриях**

Как главный внутриклеточный поставщик энергии в виде АТФ, митохондрии поглощают более 90%  $O_2$ . Аэробный энергетический обмен и митохондрии являются мишенью для гипоксии [872]. Со структурной целостностью митохондрий и протекающими в них процессами окислительного фосфорилирования связывают ОС, клеточную смерть, старение, митохондриальные болезни, канцерогенез [121; 395].

По эндосимбиотической теории Маргулис, митохондрии произошли в результате симбиоза  $\alpha$ -протобактерии с клеткой [784]. Роль митохондрий в жизнедеятельности организма определяется тремя особенностями их структурно-морфологической организации [157]: 1) наличием ферментов дыхательной цепи, организованных в четыре митохондриальных ферментных комплекса (МФК), обеспечивая стабильность работы ЭТЦ; 2) наличием собственного генома. ДНК митохондрий в клетках млекопитающих кодирует 22 тРНК, 2 рРНК [753; 797]; 3) способностью к подвижности: делению, слиянию и перемещению в клетке [499; 693; 852].

МФК I ЭТЦ (НАДН:убихинон-оксидоредуктаза, КФ 1.6.5.3) с молекулярной массой ~980 кДа состоит из 45 субъединиц, катализирует окисление НАДН [638]. МФК I состоит из 3-х модулей: N-модуль содержит флавинмоноклеотид (ФМН), который состоит из 8 железо-серных кластеров; Q-модуль включает убихиноновый сайт; Р-модуль имеет 2 домена (проксимальный и дистальный) и участвует в транслокации протонов [864]. Ингибиторы МФК I – ротенон, пьерецедин А [81]. Дисфункции МФК I приводят к: лактозному ацидозу, миопатии, неонатальной кардиомиопатии, митохондриальной энцефалопатии, эпилепсии, гепатопатии.

Комплекс II ЭТЦ (СДГ, сукцинат:убихинон-оксидоредуктаза, КФ 1.3.5.1) катализирует реакцию перехода убихинона в убихинол с током

электронов от сукцината к убихинону и далее к МФК III ЭТЦ [384]. СДГ участвует в цикле трикарбоновых кислот, катализируя окисление сукцината в fumarat [384]. Сукцинат стимулирует гликолиз и глюконеогенез, увеличивает сродство  $O_2$  к гемоглобину (Hb) в условиях гипоксии, улучшает оксигенацию тканей, работу сердечно-сосудистой системы, увеличивает реабсорбцию фосфата и глюкозы, участвует в посттрансляционной модификации белков [157]. В 1910г Танберг обнаружил способность мышечной ткани животных окислять сукцинат. В 1954г Т.П. Сингер выделил очищенную СДГ. В 1959г Циглер и Доик выделили СДГ, которая содержала флаavin, железо и гем и могла восстанавливать коэнзим Q [588]. СДГ имеет молекулярную массу ~123 кДа, состоит из 4 субъединиц, кодируемых 4 генами (SDHA, SDHB, SDHC, SDHD), в ее кристаллической структуре есть 2 домена: 1-ый (гидрофобный) связан с внутренней мембраной митохондрии, 2-ой направлен в матрикс митохондрий [384]. Субъединица SDHA включает флавинадениндинуклеотид (ФАД), субъединица SDHB содержит железо-серные кластеры [825]. Существует два класса ингибиторов МФК II: одни блокируют центр для связывания сукцината (малонат, малат и оксалоацетат), другие — центр для связывания убихинола (карбоксин и теноилтрифторацетон) [715]. Дисфункция МФК II вызывает митохондриальные энцефалопатии, опухоли хромофинновых клеток, миопатии, лейкодистрофии и кардиомиопатии, сопровождающиеся развитием гипоксии и переходом от митохондриального дыхания к бескислородным процессам (гликолиз) [157; 384].

МФК III ЭТЦ (убихинол: цитохром *c* оксидоредуктаза, КФ 1.10.2.2) транспортирует электроны от убихинола к цитохрому *c*, состоит из 11 субъединиц, 7 из которых кодируются ядерной ДНК (цитохром *c*, цитохром *c*<sub>1</sub>, белок Риске), 1 субъединица (цитохром *b*) – митохондриальной ДНК [384]. В мембране фермент существует в виде гомодимера, связывающего одну молекулу цитохрома *c*. Мутации в цитохроме *b* становятся причинами митохондриальной миопатии.

МФК IV (цитохром *c* оксидаза, цитохром *c*: кислород-оксидоредуктаза, КФ 1.9.3.1) катализирует конечный этап переноса электронов с цитохрома *c* на  $O_2$  в процессе окислительного фосфорилирования [758]. Мембраносвязанная форма фермента – димер с молекулярной массой ~ 400 кДа, состоящий из 13 типов полипептидных цепей [313; 384; 874]. Цитохромоксидаза открыта Ч.А. МакМанном. В 1931г. Отто Варбург получил Нобелевскую премию по физиологии и медицине «за открытие природы и механизма действия дыхательного фермента». Механизм связывания цитохромоксидазой  $O_2$  исследовал Бриттон Ченс [313].

Кофакторы МФК IV расположены на единицах I и II, встроенных в мембрану [405]. Субъединица I образует 12 трансмембранных  $\alpha$ -спиралей и содержит 3 окислительно-восстановительных центра: гем *a* и биядерный центр  $a_3$ -Cu<sub>B</sub>. На субъединице II расположен Cu<sub>A</sub>-центр, который состоит из 2-х атомов меди, соединённых ковалентной связью [405; 683]. Работа цитохромоксидазы сопровождается появлением мембранного протонного потенциала  $\Delta\mu H^+$ , который используется для синтеза АТФ, и позволяет отнести фермент к мембранным протонным насосам. Суммарная реакция, катализируемая МФК IV:  $4\text{цит. } c^{2+} + O_2 + 8H^+_{in} \rightarrow 4\text{цит. } c^{3+} + 2H_2O + 4H^+_{out}$ . Электроны передаются к  $O_2$  по схеме: цитохром *c*  $\rightarrow$  Cu<sub>A</sub>  $\rightarrow$  Гем<sub>*a*</sub>  $\rightarrow$  Гем<sub>*a*3</sub>  $\rightarrow$  Cu<sub>B</sub>  $\rightarrow$   $O_2$ . Восстановление молекулы  $O_2$  до  $H_2O_2$  под влиянием МФК IV происходит через 2 высокоокисленных соединения: P ( $Fe^{5+}a_3=O$ ) и F ( $Fe^{4+}a_3=O$ , оксоферрил) [405; 278; 384; 819].

Каталитический цикл цитохромоксидазы состоит из 6 стадий, названных по состоянию биядерного центра: **A** (аддукт), **P** (пероксиинтермедиат), **F** (феррилоксиинтермедиат), **O<sub>H</sub>** (окисленное высокоэнергетическое состояние), **E** (одноэлектронно-восстановленное состояние) и **R** (восстановленное состояние) [637; 884]. Цианиды, сульфиды, азиды, монооксид углерода и NO [526] связываются с окисленным или восстановленным биядерным центром цитохром *c* оксидазы, конкурируют с  $O_2$ , ингибируя при этом фермент. Муравьиная кислота может ингибировать

цитохромоксидазу [405; 526]. Мутации, затрагивающие активность или структуру цитохром *c* оксидазы, вызывают заболевания: синдром Лея, кардиомиопатию, энцефалопатию, лейкодистрофию, анемию и нейросенсорную тугоухость [890].

Комплекс V (АТФ-синтетаза, КФ 3.6.3.14) участвует в процессе использования электрохимического протонного градиента в синтезе молекул АТФ. МФК V состоит из 17 субъединиц. АТФ-синтетаза образована двумя доменами ( $F_0$  и  $F_1$ ).  $F_0$  связывает фермент с внутренней мембраной митохондрий и обеспечивает протонную проводимость между средой и активным центром [384; 540].  $F_1$  участвует в синтезе АТФ и состоит из 5 субъединиц:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ .  $F_1$  – белок с молекулярной массой 360 кДа. Фермент работает как стартер и ротор. Дисфункция АТФ-синтетазы, связанная с мутациями в генах, приводит к атаксии, нейропатии, синдрому Лея [80; 689].

При нормальных физиологических условиях одна митохондрия печени крыс может генерировать  $\sim 3 \times 10^7$  супероксид анион-радикалов в сутки [395; 484]. Главные источники АФК в клетках – МФК I и III [264; 265; 514]. Ключевую роль при продукции АФК, продуцируемых МФК I, играет ФМН [546; 562; 841]. Генерация убисемихинон анион-радикала происходит в двух Q-связывающих сайтах комплекса III [498]. Цитохром *c* рассматривается, как возможный генератор АФК в митохондриях [750]. АТФ-синтетаза принимает участие в продукции АФК путем повышения мембранного потенциала, который стимулирует продукцию на МФК I и МФК III ЭТЦ [546].

Возможна продукция АФК комплексом II ЭТЦ митохондрий [11; 779]. Источником генерации в комплексе II служит флавин [712; 771]. К ферментам, катализирующим продукцию супероксид-радикала и перекиси водорода в митохондриях, относят:

1. МФК I, катализирующий:  $\text{НАДН} + \text{Q} + \text{H}^+ + 4\text{H}^+_{\text{in}} \rightarrow \text{НАД}^+ + \text{QH}_2 + 4\text{H}^+_{\text{out}}$
2. МФК II, катализирующий реакцию:  $\text{Сукцинат} + \text{Q} \rightarrow \text{Фумарат} + \text{Q}_2$
3. МФК III, катализирующий:  $\text{QH}_2 + 2\text{цит. } c^{3+} + 2\text{H}^+_{\text{in}} \rightarrow \text{Q} + 2\text{цит. } c^{2+} + 2\text{H}^+_{\text{out}}$

4. Дигидролипоамиддегидрогеназа (ДЛДГ, диафораза Штрауба, МКФ 1.8.1.4) семейства флавин-, тиол-дисульфид-зависимых оксидоредуктаз.

Катализирует: Дигидролипоамид + НАД<sup>+</sup> → Липоамид + НАДН + Н<sup>+</sup>

5. НАД(Ф)Н оксидаза (NOX4) семейства NOX, катализирует реакцию:  
 НАД(Ф)Н + O<sub>2</sub> + Н<sup>+</sup> → НАД(Ф)<sup>+</sup> + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

6. Моноаминооксидаза (МАО, МКФ 1.4.3.4), катализирует реакцию:

Амин + O<sub>2</sub> + H<sub>2</sub>O + Н<sup>+</sup> → Альдегид + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + NH<sub>4</sub><sup>+</sup>

7. Ацил-СоА-дегидрогеназа, электронпереносящий флавопротеин и его дегидрогеназа – электронпереносящий флавопротеин (ЭПФ), ЭПФ:убихинон-оксидоредуктазе (МКФ 1.5.5.1): Ацил-СоА + Q → Еноил-СоА + QH<sub>2</sub>

8. Митохондриальная α-глицерофосфатдегидрогеназа (мГФДГ, ГФДГ 2 типа, α-глицерол-3-фосфат: убихинон-оксидоредуктаза, МКФ 1.1.99.5), катализирующая реакцию: α-глицерофосфат+Q → фосфодиоксиацетон + QH<sub>2</sub>

9. Дигидрооротатдегидрогеназа (ДОДГ, дигидрооротат: убихинон-оксидоредуктаза, МКФ 1.3.99.11), катализирующая реакцию:  
 Дигидрооротат + Q → Оротат + QH<sub>2</sub>

Внутренняя мембрана митохондрий не проницаема для супероксида [157; 848]. Основным местом утечки электронов из дыхательной цепи и, следовательно, образования O<sub>2</sub><sup>•-</sup> является убихинол: цитохром с оксидоредуктаза [510]. Гипоксия является одним из распространенных патологических состояний, связанных с дефицитом O<sub>2</sub>, и причиной функционально-метаболических нарушений. Она выступает в качестве сопутствующего фактора при геморрагическом, травматическом, ожоговом шоке [380]. В процессе адаптации клетки к гипоксии АФК способствуют активации митохондриального АТФ-чувствительного калиевого канала и системы выброса калия из митохондрий, осуществляемого K<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>-обменником [264]. Поэтому предупреждение выработки, нейтрализация и элиминация избытка радикалов кислорода и продуктов СРО является патогенетически обоснованным. Для этого существует многокомпонентная

АОС организма, которая позволяет поддерживать интенсивность СРО на оптимальном уровне, противостоять накоплению избыточного количества АФК без угрозы их участия в развитии патологических состояний.

#### 1.1.4. Антиоксидантная система защиты организма

Уровни защиты клеток макроорганизма от АФК включают:

1-й уровень – системная защита клеток за счет снижения напряжения  $O_2$  в тканях по сравнению с атмосферным воздухом [384]; 2-й уровень – четырехэлектронное восстановление внутриклеточного  $O_2$  при участии цитохромоксидазы без освобождения свободных радикалов; 3-й уровень – ферментативное удаление АФК; 4-й уровень – наличие ловушек свободных радикалов (АО); 5-й уровень – ферментативное восстановление гидроперекисей полиненасыщенных жирных кислот [17; 262].

АО – вещества, вступающие во взаимодействие с реактогенными окислителями, АФК, и приводящие к их частичной или полной инактивации [24;136; 162; 433]. АОС – это система, блокирующая образование АФК (табл. 2).

Таблица 2

#### Антиоксиданты в живых системах [167; 224]

Антиоксиданты	Локализация	Функция
<b>Ферменты и белки</b>		
<i>Cu/Zn-СОД</i>	Эритроциты, цитоплазма	Тушение $O_2^{\cdot-}$
<i>Mn-СОД</i>	Митохондрии	Тушение $O_2^{\cdot-}$
<i>Внеклеточная СОД</i>	Плазма крови, стенки сосудов	Тушение $O_2^{\cdot-}$
<i>Каталаза</i>	Пероксисомы	Тушение $H_2O_2$
<i>Глутатион-пероксидаза</i>	Цитоплазма, митохондрии	Деградация $H_2O_2$ и перекисей липидов
<i>Глутатион-трансфераза</i>	Клеточные мембраны, митохондрии, эндоплазматический ретикулум	Деградация $H_2O_2$ и перекисей липидов
<i>Ферритин</i>	Цитоплазма	Хелатор $Fe^{2+}$
<i>Трансферрин</i>	Внеклеточная среда	Хелатор $Fe^{2+}$
<i>Лактоферрин</i>	Внеклеточная среда	Хелатор $Fe^{2+}$
<i>Церулоплазмин</i>	Внеклеточная среда	Хелатор $Cu^{2+}$ , окисление $Fe^{2+}$ , тушение $O_2^{\cdot-}$
<i>Альбумин</i>	Внеклеточная среда	Хелатор $Cu^{2+}$ , тушитель $OH^{\cdot}$ , $LOO^{\cdot}$ , $HOCl$
<b>Низкомолекулярные соединения</b>		
<i>Витамин Е</i>	Биомембраны	Тушение $OH^{\cdot}$ , $LOO^{\cdot}$ , $HOCl$ и т. п.
<i>Убихинол</i>	Биомембраны	Тушение $OH^{\cdot}$ , $LOO^{\cdot}$ , $HOCl$ и т.п.
<i>Каротиноиды</i>	Биомембраны	Тушение $OH^{\cdot}$ , $LOO^{\cdot}$ , $HOCl$ , $^1O_2$
<i>Витамин С</i>	Цитоплазма	Тушение $OH^{\cdot}$ , $O_2^{\cdot-}$

<i>Карнозин</i>	Цитоплазма	Тушение $\text{OH}^\cdot$ , $\text{O}_2^\cdot$ , нейтрализация гипохлорита
<i>N-ацетил-цистеин</i>	Цитоплазма	Неизбирательное тушение АФК
<i>Таурин</i>	Цитоплазма	Нейтрализация гипохлорита
<i>Глутатион</i>	Цитоплазма, митохондрии	Тушение $\text{OH}^\cdot$ , $\text{O}_2^\cdot$
<i>Мочевая кислота</i>	Кровь	Предотвращение ПОЛ
<i>Билирубин</i>	Кровь	Предотвращение ПОЛ

По молекулярному строению в АОС выделяют ферменты и низкомолекулярные соединения ( $\alpha$ -токоферол, витамины группы А, К, Р, полиамины, мочевая кислота, глутатион, аскорбиновая кислота, билирубин, некоторые аминокислоты) [25;384]. По отношению к действию в водной или липидной фазе восстановители делят на полярные и неполярные (или водо- и жирорастворимые). По локализации действия относительно клеточных структур компоненты АОС разделяют на мембранные, внутриклеточные и внеклеточные [235]. Различают физиологическую и биохимическую систему защиты клеток организма от АФК и продуктов ПОЛ [53]. Физиологическая система защиты включает механизмы регуляции доставки и поступления  $\text{O}_2$  к клеткам. К биохимическому компоненту относится АОС организма [106]. Ляхович В.В. с соавт. [221] указывают на существование антиоксидант-респонсивного элемента (АРЭ), который служит для поддержания внутреннего гомеостаза при апоптозинулирующих, канцерогенных и стрессовых воздействиях. АРЭ-активирующей способностью обладают ароматические и тиолсодержащие соединения, гидроперекиси, каротиноиды, атомы тяжелых металлов (Cd, Co, Cu, Au, Hg, Pb) и гемовые комплексы.

В клетке существует специализированная система ингибирования окисления белков, содержащая: 1. АО: скавенжеры (метионин), антиоксидантные ферменты, клеточные низкомолекулярные АО (глутатион), 2. Хелаторы, 3. Недостаток  $\text{O}_2$ . АОС можно разделить на специфическую и неспецифическую. К специфической относят ферменты (СОД, каталазу, глутатионпероксидазу (ГП), ГТ, Гл-6-фДГ, ГР) и ферментативные компоненты, которые направлены на снижение оксидантов [162; 322]. Действие неспецифических компонентов связано со снижением возможности дополнительной генерации свободных радикалов [401].

ГТ (КФ 2.5.1.18) обладает пероксидазной активностью в отношении органических гидропероксидов. Суперсемейство ГТ подразделяется на 3 типа ферментов: цитозольные, митохондриальные и микросомальные [143]. Цитозольные ГТ – гомо- и гетеродимеры, включающие 199-244 остатка аминокислот [53; 235]. У млекопитающих выделяют 7 классов цитозольных ГТ, содержащих 16-18 изоформ [593]. Митохондриальная ГТ – димер, состоит из 226 аминокислотных остатка. У человека активность ГТ обнаружена практически во всех органах. Микросомальные ГТ – мембран-ассоциированные белки, участвующие в метаболизме эйкозаноидов и глутатиона, детоксикации ксенобиотиков, обладают антипероксидазной и изомеразной активностью [53; 235; 618]. Реакции, катализируемые ГТ, можно разделить на 4 типа: 1. Присоединение к субстрату (R) молекулы GSH (реакции с алкенами,  $\alpha$ ,  $\beta$ -ненасыщенными карбонилами, например, с эпоксидами):  $R + GSH \rightarrow HRS\dot{G}$ ; 2. Нуклеофильное замещение:  $RX + GSH \rightarrow RSG + HX$ , где X:  $X^-$ ,  $NaI^-$ ,  $NO_2^-$ ,  $HSO_4^-$ ,  $RO^-$ ,  $RS^-$ ,  $CN^-$ ; 3. Восстановление органических гидро- и эндопероксидов (ROOH) полиненасыщенных жирных кислот, фосфолипидов и простагландинов до спиртов:  $ROOH + 2 GSH \rightarrow ROH + GSSG + H_2O$ ; 4. Изомеризация, в результате которой образуется комплекс с GSH [53; 235].

Существует иная классификация уровней защиты биологических систем от влияния АФК и АФА [384]: 1. Антиоксидантные ферменты. 2. Низкомолекулярные АО. 3. Ферменты, метаболизирующие конечные продукты ПОЛ (цитохром P-450, эпоксидгидролазы, АДГ). 4. Биологические молекулы, обеспечивающие репарацию поврежденных биомолекул (восстановление дисульфидных связей белков, регенерация АО). 5. Система ингибирования ПОЛ и СРО, основанная на взаимодействии АФК с циклическими нуклеотидами, простагладинами, лейкотриенами.

Антиоксидантными свойствами обладает ряд метаболитов клетки, включая  $\alpha$ -токоферол / витамин Е, убихинон, билирубин, тиоловые соединения, производные  $\gamma$ -аминомасляной кислоты, фосфолипиды,

стероидные гормоны, N-ацетилцистеин, таурин, карнитин, липоевую, аскорбиновую (витамин С) и мочевую кислоты, каротиноиды, флавоноиды, ураты [42; 235; 269], гистидинсодержащий дипептид карнозин, мелатонин (N-ацетил-5-метокситриптамиин; индольный гормон эпифиза).

АО проявляют косвенное (*in vivo*) или прямое (*in vitro*) действие. АО косвенного влияния активируют или реактивируют ферменты АОС; подавляют накопление АФК; способствуют образованию менее реакционно-способных соединений; оптимизируют обмен веществ [123;433]. АО прямого действия подразделяются на донаторы протона (фенолы, азотсодержащие гетероциклические вещества, тиолы,  $\alpha,\beta$ -диенолы и порфирины), полиены, катализаторы, «ловушки» радикалов и комплексообразователи.

В медицинской практике наиболее перспективными группами АО являются имитаторы СОД и ГП. Нитроксилы и аминоксилы (имитаторы СОД) способны ускорять процесс дисмутации супероксид-анион-радикала. Большая часть ГП представляет собой селенопротеины (эбселен). «Ловушки» радикалов (нитроны (фенил-трет-бутилнитрон)) – аддукты радикальной природы с невысокой реакционной активностью связывают супероксидные, гидроксильные радикалы и могут угнетать СРО благодаря нейтрализации первично образующихся АФК. Комплексообразователи (хелаторы) – этилендиаминтетрауксусная кислота и ее соли (версен, трилон Б, комплексон III), карнозин, 1,10-батифенантролин, десфероксамин, изоникотиноильные соединения, флавоноиды, карведилол. Действие комплексообразователей заключается в подавлении металлозависимых реакций СРО посредством формирования комплексов с  $Fe^{3+}$  [123; 433].

АО корректируют энергетический метаболизм за счет нормализации метаболических путей, поставляющих энергетические субстраты, в частности, функций дыхательной цепи митохондрий [31; 123; 433]. Методы исследования ОАА различаются по типу источника окисления, окисляемого соединения и способа измерения окисленного соединения [377]. По способам регистрации проявляемой антиокислительной активности можно разделить

методы на волноометрические, фотометрические, хемилюминесцентные, флуоресцентные, электрохимические, методы, использующие биологические маркеры [412].

### **1.1.5. Окислительный стресс в биологических системах**

При многократном усилении процессов ПОЛ и повышении образования АФК, когда происходит срыв механизмов антирадикальной защиты, развивается ОС (оксидативный), который может проявляться на клеточном, тканевом и организменном уровнях [25; 382; 420]. Термин ОС введен Хельмутом Зисом в 1991 г. и официально вошел в словарь Mesh Pubmed в 1995г. [809], согласно которому ОС – нарушение баланса про- и антиоксидантов в пользу первых. ОС проявляется в накоплении поврежденных оснований ДНК, продуктов ОМБ и ПОЛ, снижении уровня АО и, как следствие, повышенной восприимчивостью липидов мембран и липопротеинов к действию прооксидантов, включая  $Fe^{2+}$  и  $H_2O_2$  [36; 55; 167; 301]. Иницирующий этап развития ОС при широком классе патологических состояний млекопитающих – единый биохимический и биофизический механизм – избыточное образование в биологических системах свободных радикалов [53; 809]. ОС классифицируют в зависимости от интенсивности [672]: 1) Бесстрессовое состояние; 2) ОС низкой интенсивности; 3) ОС средней интенсивности; 4) ОС высокой интенсивности.

В литературе описано свыше 200 заболеваний, при которых ОС наблюдается на начальных стадиях или в течение всей болезни [235; 321; 777]. Одним из показателей ОС является появление в структуре ДНК клетки продукта окисления гуанина – 8-гидроксидезоксигуанидина. Физиологическая и патогенетическая роли ОС определяются соотношением между активностью систем генерации АФК и системами их утилизации, которые в различных органах и тканях могут отличаться между собой [9; 191]. ОС, нарушающий работу митохондрий и выявляемый по генерации  $H_2O_2$  или дезактивации митохондриальной СОД, вызывает переход белка Vms1 из цитоплазмы в митохондрии, поддерживая нормальное

функционирование системы убиквитин-зависимой деградации белков, что необходимо для функционирования митохондрий, клеток и организма [597].

Высокий уровень окислительных процессов, вызывающий повреждение субклеточных и клеточных структур организма, является стрессирующим фактором. Термин ОС может отражать участие про- и антиоксидантных процессов в адаптационно-приспособительных реакциях организма согласно понятию «стресс» Г.Селье [25]. Стресс – стереотипная, эволюционно выработанная, генетически закреплённая, адаптивная программа, запускаемая в экстремальных условиях. Различают 3 стадии стресса: тревоги (перестройка систем жизнеобеспечения); повышенной резистентности (деструкция собственных жизненно важных структур); истощения (снижение устойчивости, срыв компенсаторных механизмов с переходом в патологию), которая может завершиться смертью [24; 281].

АФК отводится роль «первичного медиатора» стресса. Повышение АФК запускает реакции ПОЛ, компенсаторно активирует АОС и, как следствие, интенсивность окислительно-восстановленных процессов в митохондриях возрастает, способствуя утилизации конечных продуктов ПОЛ, которые, включаясь в энергетический обмен, могут обеспечивать компенсацию энергетического дефицита и восстановление синтеза веществ – стабилизаторов липопротеидных структур [380]. В результате оптимизируется активность СРО, мобилизуются энергетические ресурсы, поддерживается кислородный гомеостаз и высокая эффективность АОС [25]. Таким образом, СРО при экстремальных условиях играет важную регуляторную роль, повышая резистентность организма. Но рост продукции АФК, низкая эффективность и истощение АОС, определяемые как ОС, отражают срыв адаптационных возможностей [25].

#### **1.1.6. Карбонильный стресс**

При ряде патологий ОС сочетается с КС, к которому приводит накопление активных карбонильных соединений, способных, как и АФК, и АФА, вызывать структурные и функциональные изменения биомолекул

[446]. Понятие КС введено J.W. Baynes в 1991г. Под КС имеют в виду дисбаланс между образованием карбонильных соединений и их обезвреживанием и удалением. К активным карбонильным соединениям относят карбоновые кислоты, углеводы, альдегиды и кетоны, содержащие электрофильный углерод карбонильной группы, взаимодействующий с нуклеофильным азотом аминогруппы аминокислот и пептидов [261], образуя N-замещенные гликозиламины (основания Шиффа – альдимины), которые подвергаются перегруппировке до продукта раннего гликирования – продукта Амадори (кетамин). Образование конечных продуктов завершено гликирования (ПЗГ) происходит путём необратимых химических реакций продуктов Амадори [772; 810]. ПЗГ включают производные пиррола, пиразина, имидазола и фурана [261]. Неферментативное гликирование, приводящее к образованию ПЗГ, является ковалентной реакцией, в которой посредством N-гликозидного связывания образуется сахар-протеиновый комплекс через реакции, описанные Louis Camille Maillard (реакция Майяра или сахароаминная реакция) [605]. Начало изучения неферментативно гликированных белков и ПЗГ положено S. Rahbar в 1968г., который выделил из крови больных сахарным диабетом гликированный Hb (HbA1c). N. Rabbani и P.J. Thornalley ввели термин «дикарбонильный стресс» (dicarbonyl stress), подчеркивая основное значение  $\alpha,\beta$ -дикарбонильных соединений в формировании ПЗГ в физиологических условиях [772; 836; 837].

Альдегиды являются стабильными веществами с высокой продолжительностью жизни и реакционной способностью. Альдегиды реагируют с нуклеофильными соединениями, аминокислотами (амино- и сульфгидрильными группами), белками, азотистыми основаниями нуклеотидов, фосфолипидами и углеводами. Карбонилирование белка путем увеличения концентрации активных альдегидов или АФК приводит к изменению активности ферментов, к нарушению трансмембранного сигналинга и регуляции обменных процессов [94]. Бифункциональные

альдегиды (малоновый, глутаровый), ненасыщенные и гидроксильные производные (4-гидроксиноненаль) при взаимодействии с белками образуют меж- и внутримолекулярные сшивки в молекулах протеинов, что вызывает агрегацию внутриклеточных белков и сопровождается потерей их растворимости и свойств [95; 257]. МДА, глиоксаль, метилглиоксаль (МГ) способны модифицировать структуру липид-белковых надмолекулярных комплексов клетки. Обработка эритроцитов МДА увеличивает их устойчивость к гипоосмотическому гемолизу, в то время как изомер МДА – МГ, напротив, делает эритроциты более чувствительными к действию гипоосмотической среды [203; 204].

Альдегиды инактивируют мембранные транспортеры ( $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -АТФ-азы, транспортеры глюкозы в головном мозге) [17], шаперон Hsp90 и протеин-дисульфидизомеразу, взаимодействуют с остатками цистеина или гистидина киназ, снижая их активность [556]. Взаимодействие альдегидов с нуклеиновыми кислотами приводит к хромосомным абберациям, нарушению хранения и передачи генетической информации, ингибированию экспрессии генов и репликации ДНК. Е.А. Рассказовой с соавт. [306] впервые выявлены изменения антигенных свойств и чувствительности окисленных белков к действию протеаз нейтрофилов в зависимости от содержания в них карбонильных групп. В настоящее время в различных тканях обнаружено более 20 альдегидов и кетонов [261], основными из которых являются глиоксаль, МГ, 3-дезоксиглюкозон, представляющие собой продукты окисления глюкозы и других сахаров, а также МДА и 4-гидроксиноненаль, возникающие при ПОЛ [87]. МГ –  $\alpha,\beta$ -дикарбонильное соединение, гликирующая активность которого в 10000 раз выше активности глюкозы или фруктозы [261; 836]. Токсичное действие МГ обусловлено образованием ПЗГ (карбоксиэтиллизин, карбоксиметиллизин, имидазолон, аргпиримидины, кросс-сшитые димеры лизина с МГ) в результате взаимодействия МГ с амино- и SH-группами аминокислот белков [261; 772; 837]. При реакции МГ с аминокислотными группами белков подобных апоВ-100 может

происходить генерирование супероксидных анион-радикалов, приводя к интенсификации СРО [203; 205; 446; 448].

В живых организмах  $\alpha,\beta$ -дикарбонилы образуются в результате: гликолиза; спонтанной деградации оснований Шиффа; окислительной деградации глюкозы; фрагментации триозофосфатов; метаболизма ацетона; ПОЛ; окислительного дезаминирования биогенных аминов (норадреналин, дофамин и серотонин) [261]; окисления АФК и АФА; взаимодействия продуктов ПОЛ с остатками аминокислот (пролин, аргинин, лизин, треонин, цистеин и гистидин) в составе белков [631]; гликирования/гликооксидации аминогрупп лизина; металл-катализируемого окисления белков. Между ОС и КС существует причинно-следственная связь, и КС, подобно ОС, выступает в роли неспецифического звена патогенеза большинства заболеваний у человека, таких как диабет, старение, болезнь Альцгеймера, артриты, онкологические заболевания [95; 793]. Карбонильные группы и гидроперекиси могут служить показателями СРО [124; 196]. Эндотелин-1 является индуктором ОМБ, который способствует карбонилированию белков через образование АФК [501]. Токсичными свойствами обладает ацетальдегид: ингибирует ферменты мембран и сыворотки крови, модифицирует белки, нарушает структуры и функции ДНК, стимулирует ПОЛ. Ацетальдегид, формируя комплексы с биогенными аминами или ароматическими аминокислотами с образованием тетрагидроизохинолинов, проявляет нейрофизиологическую активность [33; 352]. М. Ichihashi et al. [613] ввели термин «glycation stress», охватывающий весь спектр последствий избыточного образования активных карбонильных соединений. Белок-модифицирующее действие глюкозы при гипергликемии может происходить 2 способами: гликированием (прямое присоединение молекулы глюкозы) и путем взаимодействия аминогрупп белков с дикарбонилами, образующимися вследствие глиоксилирования (автоокисления глюкозы или фрагментации триозофосфатов) [204; 206]. Предполагают, что развитие КС может быть при отсутствии повышенного образования АФК, ингибирования

АОС и уменьшения протеазной активности. Данный путь ОМБ связан с продукцией абберантных белков, формирующихся при нарушении трансляции, дефиците шаперонов, действии стресс-факторов [17; 206; 732].

Существуют способы защиты от КС, включающие его предупреждение, снижение реакционной способности реагентов и восстановление повреждений. В клетках тканей организма человека и животных существует специальная ферментативная система защиты от эндогенных альдегидов, включающая три основные пути их катаболизма, которые катализируются тремя семействами энзимов – АлДГ, альдегид- и кеторедуктазами и ГТ [95; 383; 468; 854]. Снижение концентрации  $\alpha,\beta$ -дикетониллов в клетке происходит за счет действия глиоксалазной системы GloI/GloII [836], а также их связывания с нуклеофильными соединениями (свободными аминокислотами, пептидами, полиаминами) [495]. Глиоксалазная система метаболизирует МГ в нейтральный продукт D-лактат. В митохондриях печени МДА окисляется митохондриальной АлДГ с последующим декарбоксилированием, в результате чего образуются ацетат и  $\text{CO}_2$  [194]. Большое количество белков, в числе которых есть белки цитоскелета, белки транспорта, митохондрий и другие, могут быть трансформированы под действием МДА [602; 889].

Препятствовать накоплению ПЗГ могут: процессы преобразования реакционноспособных сахаров в инертные производные (сахароза, трегалоза); субстратный ченнелинг – организация ферментов гликолиза в метаболон; изменение катаболизма углеводов (переход на пентозофосфатный путь (ПФП)); образование биологических макромолекул, устойчивых к неферментативному гликированию [261]. Снижение реакционной способности карбониллов или аминов происходит за счет ацетилирования концевых аминогрупп белков [818] или закисления цитоплазмы [743]. Восстановление макромолекул, модифицированных карбонильными соединениями, осуществляется в реакциях дегликирования и трансгликирования [827]. Стабильные продукты Амадори могут распадаться

под действием фермента амадориазы [659], метаболическая деградация фруктозаминов происходит с участием фруктозамин-3-киназ [812]. Избирательная деградация поврежденных макромолекул протекает за счет протеасомной системы [371; 630].

ОС и КС являются причиной повреждения ДНК, белков и липидов, что может приводить к клеточной смерти и лежит в основе ряда патологических состояний. Нарушения активности АОС и образования АФК имеет место при ТТ, поэтому контроль антиоксидантной активности тканей и снижение гипергенерации АФК является важной формой общепатогенетического лечения и профилактики ОБ.

### **1.1.7. Нарушения метаболических процессов в патогенезе ожоговой болезни**

В настоящее время используется классификация глубины термических ожогов: Ожог I степени характеризуется легкой воспалительной реакцией кожи, проходящей в течение 3–4 дней. При ожоге II степени наблюдается частичная гибель эпидермиса, который отслаивается с образованием тонкостенных пузырей. Эпителизация происходит в течение 10–14 дней. При ожоге IIIа степени (дермальном) погибает эпидермис и частично дерма; эпителизация раны обеспечивается в течение 3–6 нед. дериватами кожи (волосяные фолликулы, сальные и потовые железы), сохранившимися в глубоких слоях дермы. На месте заживших ожогов могут формироваться грубые, патологические рубцы (гипертрофические и келоидные). Ожог IIIб степени приводит к гибели всех слоев кожи, нередко и подкожно-жировой клетчатки. Ожог IV степени сопровождается омертвением кожи, подкожно-жировой клетчатки, мышц, сухожилий, костей, суставов [69].

Ожоги I, II степени относятся к поверхностным. Ожоги IIIб и IV степеней являются глубокими, требуют оперативного восстановления кожного покрова [431]. Обширный глубокий ожог вызывает длительные функциональные и морфологические изменения внутренних органов:

1. Водно-электролитные нарушения (отеки, выброс медиаторов воспаления, внесосудистая потеря воды, натрия, белка и эритроцитов).

2. Расстройство обмена веществ (гиперметаболический синдром, избыточная потеря азота). Проявлением гиперметаболизма служит белково-энергетическая недостаточность.

3. Бактериальное загрязнение тканей.

4. Осложнения со стороны жизненно важных органов [403; 765; 767].

Поэтому в медицине упрочилось понятие “ожоговая болезнь” [138]. Термин ОБ ввел Wilsori в 1929 г. для обобщения характерных изменений в организме в ответ на ожоговую травму. ОБ – специфический симптомокомплекс, развивающийся после ТТ и сопровождающийся повреждением всех саморегулирующихся систем, который отвечает 3 реакциями: нервно-рефлекторной, нейроэндокринной и воспалительной.

Выделяют 4 периода (фазы) ОБ: I – ожоговый шок (от 12 до 48 часов, но может быть до 72 часов); II – стадия острой ожоговой токсемии длится до появления признаков инфекции в ранах (~ 8-9 дней, может быть от 3 до 12 дней); III – стадия ожоговой септикотоксемии (с момента появления нагноения в ранах до заживления ожоговых ран или до момента полного оперативного закрытия ран – несколько недель или месяцев); IV – стадия реконвалесценции (после заживления или закрытия ожоговых ран). Стадии ожогового шока и острой ожоговой токсемии – острый период ОБ [35; 69].

Метаболический ответ на термическое повреждение можно рассматривать как цепь патологических процессов, приводящих к выраженному энергодефициту, синдрому кишечной недостаточности, и как результат – эндогенному инфицированию [766]. ЭИ развивается сразу после ТТ и сопровождает все стадии ОБ, определяя ее тяжесть и исход [145; 403]. Маркерами ЭИ являются молекулы средней молекулярной массы (МСМ), к которым относят: мочевины, креатинин, мочевую кислоту, аминокислоты, молочную и другие органические кислоты, аминокислоты, жирные кислоты, билирубин, холестерин, фосфолипиды и их дериваты, продукты СРО

[25;377]; высокие концентрации промежуточных метаболитов (аммиак, альдегиды, кетоны); вещества аномального метаболизма (спирты, карбоновые кислоты) и токсичные компоненты полостных сред организма (фенол, скатол, индол, путресцин, кадаверин) [160; 241; 352; 377]. ЭИ продолжает оставаться актуальной проблемой современной комбустиологии, поэтому исследование патогенеза ЭИ и способов ее снижения при ТТ очень важно.

Патологические изменения в органах при ожоге приводят к «метаболическому дистрессу», нейроэндокринный ответ которого определяется состоянием энергетического обмена благодаря распаду протеинов и жиров, росту активности процессов гликолиза и глюконеогенеза [69; 82]. Развитие ОБ сопровождается диспротеинемией, обусловленной гипоальбуминемией, повышением содержания в крови острофазных белков (С-реактивного белка и фибриногена) [69; 137; 654]. При ТТ развивается синдром системного воспалительного ответа на фоне повышения образования АФК [299; 403]. Ведущим звеном патогенеза системной органной недостаточности при ТТ считают несостоятельность механизмов транспорта  $O_2$ , обусловленную гиповолемией, нарушением микроциркуляции и системной гипоперфузией [69; 186]. Обширные ожоги кожи сопровождаются возрастанием СРО в первые сутки после травмы [145]. Ускорению СРО способствуют патофизиологические и биохимические изменения, возникающие при ТТ: гипоксия, активация клеток воспаления и гемостаза, усиление липолиза, повышение содержания в крови жирных кислот, истощение АОС [12; 145;795].

Неспецифическим индуцирующим фактором активации ПОЛ при ТТ является выброс в кровоток свободных жирных кислот, высвобождение атомарного железа из разрушенных эритроцитов, снижение микросомальной активности в печени, блокада терминального отдела участка дыхательной цепи митохондрий, выброс медиаторов воспаления, провоспалительных цитокинов, обуславливающих развитие локальной и системной гипоксии

[375]. Среди биологически активных веществ важное значение имеют гистамин (из тучных клеток поврежденной кожи), серотонин (из тромбоцитов), арахидоновая кислота, продукты ПОЛ, АФК и АФА, что приводит к формированию ОС (рис. 1) [291; 409; 680].

Развитие ОБ характеризуется повышением в крови и органах первичных и вторичных продуктов ПОЛ: максимальный рост концентрации конъюгированных диенов в крови происходит к концу первых суток, а МДА в крови и печени – на 3 сутки после ТТ [29; 312; 578; 733; 843]. «Цитокиновый шторм» приводит к росту в крови биологически активных веществ с вазо- и бронхоконстрикторным эффектом [435; 695].

Возрастающий гиперкатаболизм при ТТ может иметь компенсаторный характер, направленный на снижение метаболического алкалоза [69; 82]. ТТ обуславливает дыхательную недостаточность уже в первые часы вследствие нарушения механизмов транспорта и утилизации  $O_2$  [256], изменения активности ферментативных окислительных систем [291; 767]. Все это усугубляет респираторную, циркуляторную, гемическую, тканевую формы гипоксии [333].

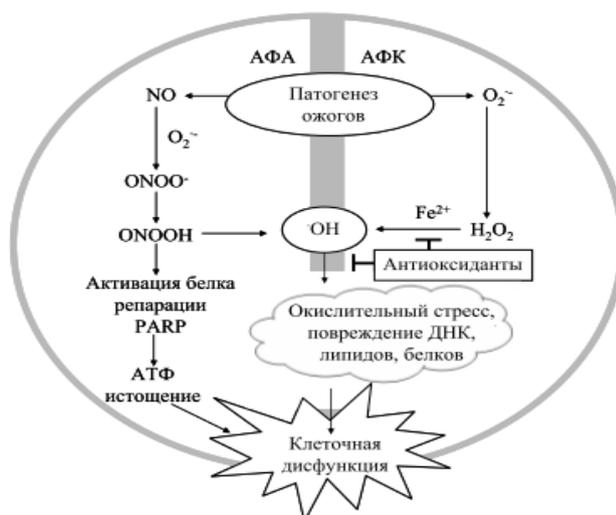


Рис.1. Значение взаимодействия активных форм кислорода и азота в патогенезе термического ожога [746]

АФК образуются в остром периоде ОБ нейтрофильными гранулоцитами крови и макрофагами [748]. Другим важным источником образования АФК является зона паранекроза, образующая ожоговую рану

[141]. Инициация ПОЛ биологических мембран приводит к формированию зоны вторичного некроза в ожоговой ране и повышает уровень ПОЛ в кожном лоскуте при пересадках [577].

АФК и продукты ПОЛ замедляют процессы регенерации тканей, пероксид водорода снижает жизнеспособность фибробластов и кератиноцитов [439]. При этом в зоне ожога антиоксидантные ферменты быстро инактивируются, что способствует замедлению заживления ран [252]. Избыток свободных радикалов кислорода в условиях ОС нарушает функционирование внутренних органов у обожженных: способствует повреждению слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта, развитию бактериемии и сепсиса [251], нарушает сократительную функцию миокарда, функции надпочечников, щитовидной железы, аденогипофиза, вызывает паралитическое расширение капилляров мышц с депонированием в них крови, повреждает эндотелиоциты микроциркуляторного русла, необратимо поражает почки, печень, способствует появлению эрозивно-язвенных кровотечений, усиливает катаболизм белка [209]. При ТТ отмечена активация образования NO, с которым связывают формирование вторичного иммунодефицитного состояния [69].

Наибольшее клиническое значение имеют сочетания ожогов кожи с термо-ингаляционной травмой (ожогами верхних и нижних дыхательных путей), для которой характерна более высокая гемоконцентрация и деструкция эритроцитов, частые ателектазы легких; острая дыхательная недостаточность, отек верхних дыхательных путей и легких; выраженная артериальная гипоксия и гиперкапния [409]. КТТ является более тяжелой формой патологии по сравнению с ожогом [473; 687; 808].

Таким образом, увеличение АФК и продуктов ПОЛ у пострадавших с ТТ вызывает нарушения функционирования всех без исключения систем и вносит существенный вклад в патогенез ОБ. ОС и КС, развивающиеся при ТТ, приводят к инактивации мембранных рецепторов, воспалительным, нейродегенеративным изменениям в тканях, поэтому поиск путей коррекции

СРО при ожогах является актуальным.

## 1.2. Особенности регуляции оксидоредуктаз клетки

### 1.2.1. Ферменты антиоксидантной защиты

Ферменты АОС, относящиеся к классу оксидоредуктаз, включают СОД, каталазу, ГП, ГР, Гл-6-фДГ. При этом основными ферментами АОС человека служат СОД и каталаза [13; 349]. СОД (супероксид: супероксид оксидоредуктаза, КФ1.15.1.1.) – металлопротеин, катализирующий реакцию дисмутации двух супероксидных анион-радикалов в пероксид водорода и триплетный кислород:  $O_2^{\cdot-} + O_2^{\cdot-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$ . СОД присутствует у всех дышащих  $O_2$  организмов [59]. Различают несколько изоферментов СОД, отличающихся по наличию кофакторов (металлов) активного центра: Cu,Zn-СОД, Mn-СОД, Fe-СОД и Ni-СОД. Во внеклеточных жидкостях млекопитающих встречается в виде гликозилированного тетрамера Cu,Zn-СОД. В настоящее время у млекопитающих идентифицированы 3 изоформы СОД. Две изоформы содержат в активном центре Cu и Zn (Cu,Zn-СОД или СОД1) или Mn (Mn-СОД или СОД2) и локализованы внутриклеточно, а также внеклеточно (ЕС-СОД или СОД3) [348].

В 1969 г. McCord и Fridovich выделили из эритроцитов быка Cu-содержащий белок – гемокупреин, который назвали эритрокупреином. Позднее сходные белки выделены из других тканей (гепатокупреин, цереброкупреин), и все они наряду с Cu содержали Zn [691]. Существуют 2 модели функционирования СОД: 1. Двухтактный механизм действия (“пинг-пнг”): последовательное восстановление и реокисление Cu в активном центре СОД; 2. Многоцентровая модель: одна молекула  $O_2^{\cdot-}$  связывается с ионом Cu в активном центре СОД, а вторая - взаимодействует с участком на периферии молекулы белка [59; 322].

Cu,Zn-СОД (СОД1) – эукариотический внутриклеточный цитозольный фермент с молекулярным весом 33200 Да, гомодимер, 2 субъединицы которого связаны между собой гидрофобными и электростатическими связями [59; 714]. В субъединицах присутствуют ион  $Cu^{2+}$ , ион  $Zn^{2+}$ ,

сульфгидрильная группа; присутствующая на конце аминокетильная группа ацетилирована [59; 322]. Медь и цинк связаны с белковой частью молекулы через гистидиновые остатки. Одновалентные анионы (хлора, гидроксила) – конкурентные ингибиторы фермента. Фермент активен при рН 6-10, может быть экстрагирован смесью хлороформ-этанол, ингибируется цианидом [59; 384]. Cu,Zn-СОД обнаружена в матриксе митохондрий и ядрах, зрелых эритроцитах, лизосомах печени. Cu,Zn-СОД встречается в ряде бактерий. Cu,Zn-СОД – единственная коммерчески доступная форма СОД (выделенная из эритроцитов, либо из печени быка).

Fe-СОД и Mn-СОД – прокариотические ферменты с молекулярным весом 39500 Да и 38700 Да соответственно, выделены из *Escherichia coli* [59]. Однако Mn-СОД содержится в митохондриях эукариот, а в некоторых растениях обнаружена Fe-СОД. Митохондриальная Mn-СОД человека имеет молекулярную массу 86-88 кДа. Оба фермента не ингибируются цианидом, состоят из 2-х субъединиц, каждая из которых включает 2 домена. Один домен содержит  $\alpha$ -спирали, второй –  $\alpha$ -спирали и  $\beta$ -слои. Вторым доменом можно представить как сэндвич с тремя спиральными участками ( $\alpha_4$ ,  $\alpha_5$ ,  $\alpha_6$ ),  $\beta$ -слоем в середине. Внутридоменная петля соединяет  $\alpha_3$  с  $\alpha_4$ , металл стабилизирует структуру фермента [802].

Митохондриальная СОД играет важную роль в предохранении клетки от ОС, а повреждение гена СОД приводит к оксидативному повреждению и дегенерации нейронов базальных ганглиев и мозгового ствола. Mn-СОД участвует в процессах клеточной дифференцировки и образовании опухолей [555], в защите от гипероксия-индуцированной легочной токсичности [53]. Ген СОД2 расположен на хромосоме 6q25 [294]. Fe-СОД – гомодимер. Но встречаются бактерии, у которых Fe-СОД – тетрамер [649].

СОД – водорастворимый фермент, характеризующийся структурной и температурной стабильностью, активен в 8 М мочеvine. Большое внимание уделяется изучению активности эритроцитарной СОД [259]. Потребление кислорода эритроцитами связано с окислением Нb в метгемоглобин, что

приводит к образованию супероксидного иона  $O_2^-$ . Большое количество СОД содержат лимфоциты. Активность СОД увеличивается при инфаркте миокарда в сыворотке крови, в эритроцитах – при гепатите, лейкемии. Уровень эритроцитарной СОД понижен при ревматоидном артрите и ослаблении иммунной системы [555]. Активность СОД увеличивается при синдроме Дауна, поскольку ген, ответственный за биосинтез Cu,Zn-СОД, располагается в 21 хромосоме. СОД из эритроцитов человека активна в интервале рН 5,5 - 11,5 с максимумом в области рН 8,0 - 9,5 [322].

В плазме крови находится экстрацеллюлярная СОД, выделенная в 1982 г S.L. Marklund и рассматриваемая как новый (третий) тип СОД (СОД3). СОД3 – гомотетрамерный Cu,Zn-гликопротеид с молекулярной массой 120-150 кДа, содержащий по 6 остатков цистеина и состоящий из двух димеров, соединенных дисульфидным мостиком [813]. СОД3 отводят роль основного регулятора биоактивности NO [770]. СОД3 найдена в фибробластах, глиальных клетках, легких, сердце, почках, плаценте, лимфе, асците, синовиальной жидкости. Цианид,  $H_2O_2$  – ингибиторы СОД3. СОД3 обладает сродством к гепарину, в результате выделены 3 формы фермента: А не имеет сродство к гепарину, формы В и С обладают соответственно слабым и сильным сродством. Формы А и В находятся в плазме, С связана с гликокаликсом эндотелиальных клеток сосудистой стенки [59; 294; 731]. СОД3 человека – октамер, состоящий из сочетаний 3-х димеров: 2-х гомодимеров (aa и ii) и одного гетеродимера (ai) [59; 754; 813].

Высокое содержание Cu,Zn-СОД и Mn-СОД обнаружено в печени, эритроцитах. В митохондриях печени крыс Cu,Zn-СОД находится в межмембранном пространстве, Mn-СОД – в матриксе и на внутренней мембране [59; 736]. У мышей активность Cu,Zn-СОД снижается в ряду: печень, поджелудочная железа, почки, эритроциты, сердце, мозг, мышечная и жировая ткань. По мере уменьшения активности Mn-СОД органы и ткани располагают в следующем порядке: сердце, почки, печень, мозг, поджелудочная железа, мышечная, жировая ткань [59; 104].

СОД обладает узкой субстратной специфичностью, катализируя прямую и обратную реакции. СОД способна генерировать из  $\text{H}_2\text{O}_2$  супероксидный радикал [123]. При ожоговом шоке и холодовом повреждении экзогенная СОД оказывает протекторное действие, связывая АФК. Применение СОД-содержащего крема в ранние сроки после поверхностного отморожения кожи у крыс приводило к более быстрому заживлению ран [123, 433]. Реакция дисмутации супероксида, катализируемая СОД, протекает в две стадии: 1)  $\text{E} - \text{Me}^{2+} + \text{O}_2^{\cdot-} \rightarrow \text{E} - \text{Me}^+ + \text{O}_2$ ; 2)  $\text{E} - \text{Me}^+ + \text{O}_2^{\cdot-} + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{E} - \text{Me}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2$

Разложение  $\text{H}_2\text{O}_2$  осуществляет каталаза (КФ 1.11.1.6;  $\text{H}_2\text{O}_2:\text{H}_2\text{O}_2$  – оксидоредуктаза):  $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}_2 = \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}$  [162]. Каталаза, катализируя гетеролитическое расщепление О-О-связи в  $\text{H}_2\text{O}_2$ , является синергистом СОД в клетке. Каталаза – хромопротеид с молекулярной массой 240 кДа, простетической группой которого является гем, содержащий обратимо изменяющийся Fe (II) – Fe (III) ион. Молекула каталазы состоит из 4-х идентичных субъединиц [53; 294]. Активный центр фермента состоит из двух остатков (проксимальный – Туг и дистальный – His) [509]. Маленькая субъединица каталазы содержит протопорфирин или гем b. Большая субъединица включает гем d [458]. Реакция нейтрализации  $\text{H}_2\text{O}_2$  проходит в 2 стадии: I – одна молекула  $\text{H}_2\text{O}_2$  окисляется в гем-содержащей части каталазы в оксиферильные формы; II – другая молекула  $\text{H}_2\text{O}_2$  утилизируется с образованием молекулы  $\text{H}_2\text{O}$  и  $\text{O}_2$  [384].

Каталаза способна катализировать окисление, с участием  $\text{H}_2\text{O}_2$ , различных метаболитов и токсинов, таких как метанол, этанол, муравьиная кислота, фенолы [53; 790]. Оптимальная величина pH для каталазы составляет 6,0–8,0 [141]. Каталаза распространена практически во всех тканях животных, человека, растений и микроорганизмах. Каталаза локализуется в основном в пероксисомах, микросомах и цитозоле [329]. У человека высокое содержание каталазы обнаружено в эритроцитах, печени и почках [24; 322]. Ген каталазы расположен на хромосоме 11 (11p13) и

содержит 13 экзонов [664; 720]. Повышенное количество метионина, цистина, меди, цинка ингибирует активность каталазы [23; 24; 62]. При онкологии активность каталазы уменьшается в печени и почках [329].

Другим важным компонентом АОС организма является глутатионовое звено, в состав которого входит несколько ферментов и глутатион. ГП (КФ 1.11.1.9; глутатион: $\text{H}_2\text{O}_2$ -оксидоредуктаза) – семейство ферментов, которые катализируют восстановление  $\text{H}_2\text{O}_2$  и органических гидропероксидов до воды и спиртов. ГП – Se-содержащий фермент, что определяет его антиоксидантные свойства. У млекопитающих идентифицировано 7 изоформ ГП. ГП1 защищает Hb от окислительного повреждения, максимальное содержание отмечено в эритроцитах, печени, почках и легких [487]. ГП2 – тетрамер, содержится в цитозоле [466]. ГП3 – гликопротеид внеклеточного пространства, секретлируемый белок. ГП4 – фосфолипидная ГП – активна в отношении мембраносвязанных гидропероксидов. ГП5 – секретлируемый белок, не содержит селен. ГП6 обнаружена в обонятельном эпителии. ГП6 человека имеет в активном центре селеноцистеин, у мышей и крыс присутствует цистеин. Обнаруженная у млекопитающих ГП7 участвует в снижении ОС в клетках рака молочной железы [384]. По структуре ГП1, -2, -3, -5 и -6 являются гомотетрамерами. ГП4 и ГП7 – мономеры [53].

ГР (НАД(Ф)Н:окисленный глутатион оксидоредуктаза, КФ 1.6.4.2) – НАДФ-зависимый фермент, катализирующий превращение окисленной формы глутатиона в восстановленную:  $2\text{НАДФН} + \text{GSSG} \rightarrow 2\text{НАДФ}^+ + 2\text{GSН}$ . Т.Гопкинс в 1931г. открыл сопряженную с регенерацией НАД систему восстановления GSSG, а ГР была обнаружена в 1951г. Конном в растениях и в 1952г. А.Ленинджером у животных. ГР – флавопротеин, содержащий ФАД в качестве простетической группы. ГР – гомодимер с молекулярной массой ~ 105кДа, каждая субъединица включает 3 домена: НАДФН-связывающий, ФАД-связывающий и домен димеризации [53]. ГР термостабильна, сохраняет свою функцию при 65°C. ГР – цитозольный фермент, активность которого

регулируется цАМФ-зависимым механизмом. ГР содержит SH-группы, от состояния которых зависит ее каталитическая активность [684].

Механизм действия ГР включает 2 стадии: восстановительную и окислительную. Вначале, НАДФН восстанавливает ФАД, приводя к образованию ФАДН<sup>-</sup> аниона, который разрушает дисульфидную связь между Cys58 – Cys63, высвобождается НАДФ<sup>+</sup>. На окислительной стадии Cys63 нуклеофильно взаимодействует с GSSG, приводя к образованию дисульфидной связи (GS-Cys58) и GS-аниона, дисульфид Cys58 – Cys63 восстанавливается с высвобождением второго GSH [53; 474].

ГР присутствует практически во всех тканях, но максимально в почках, печени, сердце, эритроцитах. Рост активности ГР наблюдается при гепатите, механической желтухе, сахарном диабете, дефиците Гл-6-фДГ, серповидной, мегалобластной анемиях, после введения никотиновой кислоты, физической нагрузки. Недостаток ГР отмечается при дефиците рибофлавина [384].

Основным источником НАДФН является ключевая первая реакция ПФП метаболизма углеводов, которая лимитирует возможности редокс-циклирования глутатиона [211]. Эту реакцию окисления глюкозо-6-фосфата с образованием 6-фосфоглюконолактона и НАДФН катализирует Гл-6-фДГ (КФ 1.1.1.49). Гл-6-фДГ – цитозольный фермент с молекулярной массой 59,3 кДа, состоит из 515 остатков аминокислот [53; 201]. Гл-6-фДГ человека находится в состоянии динамического равновесия между димерной и тетрамерной формами [53], которое зависит от pH, ионной силы и наличия двухвалентных катионов. Наибольшее содержание фермента обнаружено в селезенке, печени, почках, легких, сердце, тонком кишечнике, поджелудочной железе, семенниках, лимфатических узлах, эритроцитах, молочной железе [211; 414]. ГР, Гл-6-фДГ являются основными источниками поддержания высокого содержания GSH в клетке.

**1.2.2. Альдегиддегидрогеназа: строение, каталитические свойства, значение в системе детоксикации организма**

АлДГ (альдегид: НАД(Ф)<sup>+</sup>-оксидоредуктазы, КФ 1.2.1.3) [358]– группа ферментов, катализирующих превращение альдегидов до соответствующих кислот:  $\text{CH}_3\text{CHO} + \text{НАД}^+ + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_3\text{COOH} + \text{НАДН} + \text{H}^+$

АлДГ распространены от бактерий до млекопитающих [883]. НАД – предпочтительный кофермент, чем НАДФ [620]. АлДГ содержится в печени, почках, матке, плаценте, надпочечниках, половых железах, тонком кишечнике, мозге, сердце, жировой ткани, легких млекопитающих (ткани расположены в порядке снижения активности АлДГ) [352; 634]. Активность фермента обнаружена в митохондриях, цитозоле, пероксисомах, микросомах [352]. АлДГ содержит Zn, существует во множественных молекулярных формах, различающихся по свойствам и локализации. В печени млекопитающих АлДГ локализована в цитозоле (АлДГ1) и митохондриях (АлДГ2) [353; 375; 620]. У людей идентифицированы 12 генов АлДГ [353; 375]. Каталитически активные формы ферментов – гомодимеры (АлДГ3, АлДГ4), гомотетрамеры (АлДГ1, АлДГ2, АлДГ9, MMSDD) [645; 725]. Н. Riveros-Rosas et al. [786] сгруппировали изоэзимы АлДГ млекопитающих в несколько классов, в зависимости от структуры, каталитических свойств, локализации. I Класс (АлДГ1) – гомотетрамеры с субъединицами 54 кДа. АлДГ1 – цитозольный фермент клеток различных тканей, включая мозг и эритроциты. АлДГ1 высоко активна при окислении альдофосфамида, 11-гидрокси-тромбоксана В<sub>2</sub>, играет роль в детоксикации антиканцерогенных лекарств, оксазофосфоринов, пероксидных альдегидов [861], имеет высокое сродство к ретиналю, активной форме витамина А.

II Класс (АлДГ2) – тетрамеры с субъединицами массой 54кДа, встречающиеся преимущественно в митохондриях большинства тканей (печень>почки>сердце), и закодированы геном АлДГ2, расположенным в хромосоме 12 [645]. АлДГ2 высоко активна для окисления ацетальдегида ( $K_m < 5\text{мМ}$  при pH 7,5), ингибирует апоптоз нейронов после спинномозговой травмы [666]. АлДГ митохондрий защищает от липополисахарид-индуцированной дисфункции [607].

III Класс (АлДГ3) – димеры, локализованные в цитозоле клеток желудка, легких и печени, с субъединицами массой 50 кДа, имеют высокую  $K_m$  для ацетальдегида, низкую  $K_m$  – для  $\gamma$ -аминобутиральдегида. Это индуцибельные ферменты, синтез которых стимулируют диоксины и полициклические углеводороды. АлДГ3 окисляет ароматические и среднецепочечные алифатические альдегиды, участвует в метаболизации аминокислот и детоксикации пероксидных альдегидов. Активность АлДГ3 проявляется в гепатоцеллюлярных карциномах человека [718].

IV Класс (АлДГ4) – ферменты, локализованные в митохондриях печени и почек и идентифицированные как дегидрогеназа глутаминовой кислоты [817]. Оптимальными субстратами для АлДГ4 являются глутаминовый  $\gamma$ -полуальдегид, бензальдегид, алифатические альдегиды.

АлДГ 6 участвует в формировании ретиной кислоты. Ген АлДГ6 локализован в хромосоме 15 и кодирует полипептидные цепи из 512 аминокислот. Содержится в слюнных железах, желудке и почках [718]. АлДГ9 катализирует окисление 4-аминобутиральдегида, цитозольный фермент. АлДГ10 – микросомальный фермент, окисляет среднецепочечные алифатические альдегиды. Генетический недостаток АлДГ10 нарушает метаболизм мембранных липидов, вызванный неврологическими проблемами. MMSDH – Ко-А зависящая дегидрогеназа в семействе АлДГ, катализирует окислительное декарбоксилирование малонат-полуальдегида и метилмалонатполуальдегида в ацетил-КоА и пропионил-КоА и может быть вовлечена в катаболизм  $\beta$ -аланина, валина и тимицина [352; 374; 796]. АлДГ1, АлДГ2 и АлДГ3 дегидрогенизируют акролеин, 5 – имидазолацетальдегид, 3,4-дигидроксифенилацетальдегид,  $\gamma$ -аминобутиральдегид, 5-гидроксииндолацетальдегид.

Ген АлДГ5 локализован в хромосоме 9 и кодирует полипептидные цепи из 517 аминокислот [862]. Ген АлДГ7 выражен в почках и легких, кодирует полипептидную цепь из 468 аминокислот. Ген ALDH8 выражен только в околоушной железе, кодирует цепь из 446 аминокислот [671].

Человеческая АлДГ имеет 92%-ую идентичность с крысиной печеночной  $\gamma$ -триметиламинобутиральдегиддегидрогеназой. И человеческая АлДГ<sub>9</sub>, и крысиная АлДГ участвуют в биосинтезе карнитина. Человеческая митохондриальная АлДГ идентична АлДГ коровы [725].

Наиболее изучена АлДГ печени с молекулярной массой выше 200000 Да. Различают 2 группы АлДГ: с низким и высоким сродством к ацетальдегиду. Изоэлектрическая точка (ИЭТ) изоферментов АлДГ – от 5,0 (печень лошади) до 7,5 (печень крысы). АлДГ из пероксисом – тетрамер с молекулярной массой 187000 Да [459]. Выделено и охарактеризовано 2 изофермента АлДГ из митохондрий и 2 – из микросом [560] нормальной печени крыс. ИЭТ для митохондриальных изоферментов I и II равна 6,7 и 6,4. Все 4 изофермента тетрамеры. Митохондриальные и микросомальные АлДГ из печени могут окислять алифатические и ароматические альдегиды [718].

Описаны 4 изофермента индуцибельной цитоплазматической фракции печени крыс, которые можно разделить на 2 группы. 1 группа включает изофермент, индуцированный 2,3,7,8-тетрахлордибензо-*p*-диоксином и ткань-специфический изофермент, найденный в гепатоцеллюлярных карциномах. Оба с молекулярным весом по 110000 Да, предпочитают НАДФ<sup>+</sup> и окисляют бензальдегид-подобные ароматические альдегиды. 2 группа содержит фенобарбитал-индуцибельный изофермент нормальной печени и изофермент, появляющийся при гепатокарциногенезе. Оба с молекулярным весом по 165000 Да, окисляют фенилацетальдегид, НАД-специфичные, предпочитают алифатические альдегиды [883].

Выявлены видовые различия в изоферментном спектре АлДГ [505]. Имеются отличия первичной структуры АлДГ цитозоля и митохондрии печени у человека. У первого фермента N - конец полипептидной цепи ацетилирован, у второго на C- конце расположен Glu-487 [861]. Некоторые изоферменты АлДГ принимают участие в образовании метаболитов кортикостероидов, оксииндолуксусной, гомованилиновой, 3,4-диоксифенилуксусной и желчных кислот. АлДГ – ключевой фермент в

метаболизме ацетальдегида и оксалата, может участвовать в окислении холестерина и их дериватов в стерольные карбоновые кислоты [503]. АлДГ – главные детоксицирующие ферменты, которые устраняют реактивные карбонилы, полярные стеролы, токсичные биогенные и ксенобиотичные альдегиды [876; 883]: среднепочечные альдегиды (алканали, алкенали, 4-гидроксиалкенали, продукты ПОЛ) [709; 869], гексаналь, транс-2-гексаналь, транс-2-октеналь, 4-гидрокси-2-ноненаль [352; 374; 469; 782; 840].

АлДГ участвует в метаболизме органических нитратов [463; 660; 703; 724; 847], при этом NO и его производные могут ингибировать АлДГ [710]. Оптимум pH для АлДГ мозга – 9,3 [510; 814]. Активный центр АлДГ содержит две SH-группы, с которыми связывается альдегид с образованием тиополуацеталей [125; 352; 374]. АлДГ активность обнаружена в клетках глии, нейронах, синапсоммах мозга крысы. В ЦНС крыс существуют 3 метаболических барьера для альдегидов: между кровью и нервной тканью (АлДГ эндотелия капилляров и окружающих астроцитов), между кровью и ликвором (АлДГ эпендимоцитов сосудистых сплетений), ликвором и нервной тканью (АлДГ эпендимоцитов) [125; 352; 374].

Предполагается, что механизм действия АлДГ идентичен механизму глицеральдегидфосфатдегидрогеназы. Кроме дегидрогеназной АлДГ печени обладает эстеразной активностью. Реакция окисления ацетальдегида является двухсубстратной, протекает с образованием тройного комплекса. Кофактором АлДГ является молибден. Механизм действия АлДГ осуществляется через ковалентное серосодержащее производное альдегида и S цистеина 302 [158; 352; 374]. Получен и охарактеризован очищенный препарат АлДГ из эритроцитов человека [455; 887]. Обнаружена активность АлДГ в сыворотке, лейкоцитах и лимфоцитах крови [242; 551].

Конкурентные ингибиторы АлДГ *in vitro* – трихлорацетальдегид, хлоралгидрат (аналоги субстрата). Производные фенотиазина подавляют активность АлДГ по смешанному типу. Гидроксимеркурибензоат и хлоралгидрат – важные ингибиторы изофермента I из митохондрий и

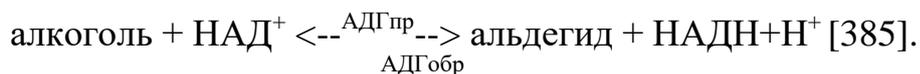
микросом [661]. Ингибируют АлДГ препараты сенсibiliзирующего типа (дисульфирам, цианамид кальция, метронидазол) [158; 523; 626], толбутамид, хлорпропамид, производные циклопропилэтиламинов, структурные аналоги паргилина [158], нитроксил (HNO), производное цефалоспориновых антибиотиков метилтетразолатиол, этилмалеат и форон, амиды монозамещенных бензойных кислот [168; 169]. Коприн (N5-(1-гидроксициклопропил)-L-глутамин) и его метаболит – аминокциклопропанол (циклосоерин) ингибируют АлДГ печени *in vivo* [352; 374]. Ингибитор эритроцитарной, лейкоцитарной АлДГ – диэтилтиокарбаминовая кислота. Индукторы цитозольной АлДГ – фенобарбитал, тетрахлордibenзо-*n*-диоксан. *In vivo* клофибрат индуцирует АлДГ пероксисом печени. Активаторами АлДГ митохондрий печени людей выступают низкие концентрации ионов  $Mg^{2+}$  (120-140 мМ) [352; 374]. Максимальная стимуляция АлДГ зависит от концентрации НАД<sup>+</sup> [849; 850].

При алкоголизме отмечено падение активности АлДГ в биоптатах печени [352; 374; 786]. Этанол поражает больше мозговые ферменты, чем печеночные [23]. Снижение активности АлДГ вызывает митохондриальные дисфункции при заболеваниях: болезнь Альцгеймера [352; 374; 735], синдром Дауна [668], инфаркт [494], сердечно-сосудистые заболевания [869; 877], злокачественный процесс [728; 729; 749].

Таким образом, рост концентрации альдегидов при ТТ, возможно, обусловлен ингибированием АлДГ [563], определение активности которой может служить дополнительным критерием в оценке степени ЭИ при ТТ [352; 374]. В утилизации альдегидов принимает участие также АДГ.

### **1.2.3. Алкогольдегидрогеназа: характеристика, свойства, роль в защитных механизмах организма**

АДГ (алкоголь: НАД<sup>+</sup> - оксидоредуктаза, К.Ф.1.1.1.1) – фермент, распространенный в тканях животных, растений, клетках прокариот и эукариот. АДГ катализирует обратимое превращение спиртов и ацеталей в альдегиды и кетоны с НАД или НАДН как кофактором:



Впервые АДГ выделена из мозга крысы. Молекулярная масса ее ~ 80000 Да, фермент ингибируется пиразолом, аналогично печени. Обнаружено 3 семейства АДГ, полипептидные цепи которых являются продуктами экспрессии 7 генетических локусов (АДГ 1-7). Первое семейство характерно для насекомых и включает АДГ, которая не содержит ионы металлов и использует короткоцепочечный субстрат. Второе семейство включает АДГ млекопитающих, использующую в качестве субстрата средне- и длинноцепочечные молекулы. Ферменты содержат ион Zn и делятся на тетрамеры и димеры. АДГ третьего семейства содержит ион Fe и характерна для одноклеточных организмов [887]. На основании электрофоретической подвижности в соответствии со структурами и функциями энзимов выделяют 6 классов АДГ (I - VI), различающихся субстратной специфичностью, способностью к окислению этанола. Окисление этанола – это функция АДГ классов I и IV [14]. Невысока способность АДГ I и IV окислять метанол.

АДГ I - класс, встречающийся в печени, имеет низкие значения Km для этанола, наибольшую субстратную специфичность, ингибируется пиразолом. Изозимы АДГ I закодированы тремя генами АДГ1, АДГ2 и АДГ3, локализованными в 27 хромосоме, которые кодируют 3 субъединицы – α, β, γ, делящиеся на α<sub>1</sub> (печень), β<sub>1</sub>, β<sub>2</sub> и β<sub>3</sub> (печень и легкие), γ<sub>1</sub> и γ<sub>2</sub> (печень и желудок), образующие гомо- (печень) и гетеродимеры [554; 568; 598]. Изофермент АДГβ1 (аллель АДГ<sub>2</sub><sup>1</sup>) чаще встречается у европейцев, АДГβ2 (аллель АДГ<sub>2</sub><sup>2</sup>) – у азиатов [14; 834]. АДГ I млекопитающих – димеры, состоящие из субъединиц с молекулярным весом ~ 40000 Да [568], имеет 28 SH-групп. В активном центре АДГ локализован Zn<sup>2+</sup>, связанный с цистеином и гистидином [745]. На поверхности молекул АДГ – 8 водородных связей. АДГ I окисляет первичные (до альдегидов), вторичные (до кетонов) и циклические спирты [629]. Оптимум действия при pH 8,0 [759-761]. АДГ I детоксицирует эндогенные (ацетальдегид, ароматические, алифатические альдегиды) и экзогенные соединения (дериваты 1,3-бутадиена, бензохиноны,

ксенобиотики с гидрокси-/альдегидными группами), участвует в катаболизме и синтезе нейромедиаторов, желчных кислот, ретиноидов, холестерина [14].

АДГ II (предсталена в печени, почках, легких, роговице) - гомодимер, состоящий из полипептидных цепей  $\lambda$ , ингибируется пиразолом, с низким сродством к этанолу, не окисляет метанол, этиленгликоль, циклогексанол. Альдегиды – физиологические субстраты АДГII [129; 510].

АДГ III (содержится в большинстве тканей) состоит из двух одинаковых субъединиц типа  $\chi$ , образующих гомодимер, кодированный АДГ5 геном. АДГ III участвует в деградации длинноцепочечных алкоголей [622], переносе одноуглеродных фрагментов, метаболизме  $\omega$ -гидроксижирных кислот, стероидов, ретиноидов, окисляет глутатион-конъюгированный формальдегид [14], активна по отношению к глутатион-NO и свободным гидроксильрованным жирным кислотам, детоксицирует продукты ПОЛ, эндогенные ароматические и алифатические альдегиды [14].

АДГ IV (обнаружена в слизистой желудка, роговице, кожном эпителии, печени, надпочечниках) состоит из 2-х идентичных субъединиц  $\sigma$ , в каждой из которой – по 2 иона  $Zn^{2+}$ , осуществляет трансформацию бензохинонов, ксенобиотиков с гидрокси- и альдегидными группами, дериватов 1,3-бутадиена, эндогенных алифатических и ароматических альдегидов, ацетальдегида. Ингибируются циметидином, рантидином, низатидином и аспирином. Обладают ретинол-дегидрогеназной активностью [14; 759].

АДГ V (содержится в печени, желудке, кишечнике) представлена гомодимерами, кодированными геном АДГ6, который экспрессируется в печени [465]. Обладает высокой  $K_m$  к окислению этанола. АДГ VI в большом количестве находится в печени, меньше – в почках [786]. Этот класс не найден в организме человека, хотя обнаружен у крыс [742].

Фермент находится преимущественно в цитозольной фракции клеток, может взаимодействовать с мембранами. Ингибиторы фермента: аналоги субстрата (пиразол и его производные), вещества, взаимодействующие с Zn или коферментсвязывающей областью фермента, SH-группами

(этилендиаминтетраацетат, 8-оксихинолин, фенантролин, бипиридин, 4-метилпиразол, 4-пентилпиразол, меркаптоэтанол), ареноблокаторы, амфетамин, тиреоидные гормоны, диметилформаид, диметилсульфоксид, дисульфирам, цианиды, йодоацетат [385], производные адамантана (индукторы выхода дофамина), метронидазол, циметидин (блокатор рецепторов гистидина), меркаптаны, флумазенил, формамиды, изобутирамид, метилазобензен. Конкурентные ингибиторы – галогенсодержащие субстраты (трихлорэтанол, хлоралгидрат, фенилгидразин, йодтиронины) [14; 798].

АДГ млекопитающих осуществляет окисление/восстановление следующих спиртов/альдегидов: этанол, ацетальдегид, длинноцепочечные алифатические и ароматические спирты, полиеновые спирты, первичные и вторичные алифатические альдегиды, пантотениловый алкоголь, диолы, 3,3'-диметилалиловый спирт, гераниол, фарнезол, ω-оксигирные кислоты [385], гидроксильированные жирные кислоты, формальдегид (глутатионзависимое), бензохиноны, ретиналь. К некоторым специфическим субстратам АДГ относятся: 3,4 –дигидроксифенилэтанол, 4-гидрокси-3-метоксифенилэтанол, 5-гидроксииндол-3-ацетальдегид, 5-гидрокситриптофол, гидроксистероиды, 5-оксиэтилтиазол, 4-гидроксиноненаль, альдегиды, полученные при ПОЛ, промежуточные продукты синтеза желчных кислот и холестерина, стероиды и метаболиты стероидных гормонов, ретинол, ксенобиотики, гликоли, катаболиты катехоламинов и серотонина [25; 364; 752; 759; 760; 781], канцерогенные аминоазокрасители, родственные метилазобензену (N-сульфонилокси-4-метиламино-3'-метилазобензен, 3'-метил-N,N-диметил-4-аминоазобензен) [745], группа токсических соединений бензина, сигаретного дыма. Активация АДГ происходит под влиянием дезоксихолата натрия (1 мМ) и желчных кислот, а также путём гликозилирования [352; 374; 875]. Основные процессы, в которые вовлечены АДГ: окисление ретинола в ретиналь; участие АДГ IV, АДГ I на ранних стадиях развития надпочечников в эмбриогенезе; поддержание оптимального уровня нейромедиаторов;

превращение янтарного семиальдегида; АДГ I катализирует окисление гормональных гидроксистероидов; синтез и катаболизм холестерина, ω-оксигирных кислот и простагландинов [517; 602; 603].

В сыворотке крови здорового человека АДГ отсутствует [682]. У крыс активность АДГ на 1 г ткани снижается: печень, тонкий кишечник, лёгкие, почка, сердце, сетчатка глаза, селезёнка, мозг, скелетные мышцы [400; 419; 751]. Фермент выделен в очищенном виде из: печени лошади, человека, перепела, крысы, кролика, землеройки, мозга, семенников. АДГ печени – цитоплазматический фермент [400; 419; 760; 761]. Большую роль АДГ подтверждают изменения ее активности в органах и тканях при различных патологических состояниях [385; 619; 621; 673; 681; 686; 740; 741; 792; 881; 892]. Дифильная природа продукта и субстрата АДГ (этанола и ацетальдегида) играет значимую роль в поддержании гидрофобности белков [303; 566; 705]. Оба соединения – двууглеродные радикалы, конкурентно взаимодействующие с другими двууглеродными молекулами на уровне активных центров ферментов, транспортных белков и специфических рецепторов [33]. Пара этанол/ацетальдегид играет роль во взаимоотношениях с нейромедиаторами, гормонами, их предшественниками и метаболитами, содержащими гидроксильную или карбонильную группы [93; 94; 204].

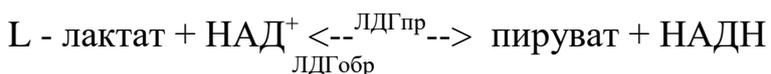
С учетом малой молекулярной массы этанола ( $10^{-4}$  моль/л содержание в крови) он находится в одном ряду с другими промежуточными продуктами углеводного и белкового обмена (глюкоза, глюкозо-6-фосфат, фосфодиоксиацетон, аминокислоты). Ацетальдегид (содержание в крови  $\sim 10^{-9}$  моль/л) постоянно присутствует в организме в равновесных (1:100) с этанолом соотношениях [95]. Поэтому роль этанол/ацетальдегид в поддержании гомеостаза подобна той, которую выполняют в организме отношения глюкоза/глюкозо-6-фосфат и лактат/пируват в контроле реакций гликолиза и стабилизации уровней интермедиатов гликолиза [93; 95; 385].

При нарушении метаболизма концентрация пирувата изменяется меньше, чем лактата, в результате лактат нивелирует колебания пирувата.

Аналогична ситуация и для этанол/ацетальдегида. Главной функцией АДГ является образование эндогенного этанола и, следовательно, регулирование его уровня и обеспечение гомеостаза эндогенного ацетальдегида [352; 374; 677], аналогично ЛДГ. Имеются данные о взаимодействии АДГ и ЛДГ [187; 400; 419; 726; 842; 845].

#### **1.2.4. Лактатдегидрогеназа: формы, участие в биохимических и физиологических процессах организма**

ЛДГ (L-лактат: НАД<sup>+</sup>-оксидоредуктаза, КФ 1.1.1.27) – фермент, принимающий участие в реакциях гликолиза, содержится во всех живых организмах, главным образом, в цитоплазме клеток [580; 860]. ЛДГ обратимо катализирует окисление лактата в пируват. Коферментом ЛДГ является НАД. ЛДГ может также реагировать с НАДФ в качестве кофермента.



Оптимальная величина рН для образования лактата из пирувата – 8,8-9,8, для превращения пировиноградной кислоты в молочную при 37°С – 7,4-7,8. Впервые ЛДГ получена из отмытой мышцы Маергофом в 1909 г, а в 1940 г Штрауб получил её в кристаллическом виде. Молекула ЛДГ является гомо- или гетеротетрамером, 2 локуса генов которого кодируют синтез 2 олигомеров, содержит цинк. Тетрамер ЛДГ состоит из белковых субъединиц 2-х типов Н и М [400; 419]. Субъединица М кодируется геном 8 хромосомы и синтезируется в тканях с анаэробным метаболизмом, Н – субъединица кодируется геном 12 хромосомы и присутствует в тканях с аэробными процессами. Молекулярная масса каждой субъединицы – 35 кДа. Полипептидная цепь обеих субъединиц содержит 330 аминокислотных остатков [400; 419]. В тетрамерной структуре ЛДГ субъединицы связаны ионными и водородными взаимодействиями. В цитоплазме клеток и сыворотке крови две субъединицы ЛДГ образуют 5 изоферментов, обозначаемых в соответствии с их разной подвижностью при электрофорезе: ЛДГ<sub>1</sub> (Н<sub>4</sub>), ЛДГ<sub>2</sub> (Н<sub>3</sub>М<sub>1</sub>), ЛДГ<sub>3</sub> (Н<sub>2</sub>М<sub>2</sub>), ЛДГ<sub>4</sub> (Н<sub>1</sub>М<sub>3</sub>), ЛДГ<sub>5</sub> (М<sub>4</sub>) [110].

Ткани и органы человека располагают по степени уменьшения в них активности ЛДГ (на 1г сырого веса): скелетная мышца, печень, сердце, почки, лимфатические узлы, поджелудочная железа, легкие. ЛДГ присутствует в эритроцитах, тромбоцитах и лейкоцитах. Изоферменты ЛДГ тканеспецифичны: ЛДГ<sub>1</sub> преобладает в тканях с аэробным типом метаболизма (сердце, мозг, почки, эритроциты, тромбоциты, лейкоциты); ЛДГ<sub>2</sub> - в ретикулоэндотелиальной системе, почках, эритроцитах, лейкоцитах; ЛДГ<sub>3</sub> - в легких, лимфоидной ткани, тромбоцитах и опухолях; ЛДГ<sub>4</sub> - в почках, скелетных мышцах, плаценте и поджелудочной железе; ЛДГ<sub>5</sub> - в тканях с высоким уровнем гликолиза (поперечнополосатые скелетные мышцы, печень). Изоферменты ЛДГ<sub>4</sub> и ЛДГ<sub>5</sub> присутствуют в неопластических тканях. ЛДГх (ЛДГ-С), состоящий из 4х субъединиц присутствует в семенниках юношей с 15 лет, ЛДГ-6 определяется в сыворотке крови тяжело больных лиц [417]. Активность ЛДГ определяют для диагностики заболеваний печени и желчевыводящих путей [373].

Характерной особенностью молекулы ЛДГ является её построение из 2-х доменов [352]. Один из них, ответственный за связывание НАД<sup>+</sup>, по структуре сходен с другими НАД-зависимыми дегидрогеназами (АДГ, малатдегидрогеназой, глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназой) [400; 419]. Другой домен имеет характерные особенности в архитектуре. Синтез субъединиц, составляющих ЛДГ, находится под контролем 2-х, а в ряде случаев – 3-х генов: А, В, С [218]. Изофермент ЛДГ<sub>1</sub> чувствителен к ингибированию высокими концентрациями пирувата, активность ЛДГ<sub>5</sub> не оказывает влияние на изменение концентрации субстрата. Так как субъединицы Н и М легко рекомбинируют, могут получаться 3 гибридных гетеротетрамера: Н<sub>3</sub>М, Н<sub>2</sub>М<sub>2</sub> и НМ<sub>3</sub> [400]. Имеются различия по значениям К<sub>т</sub> у изоферментов ЛДГ [110]. В моче, мышцах и плазме крови человека обнаружены пептиды, способные ингибировать активность ЛДГ. ЛДГ ингибируется парахлормеркурибензоатом [411; 483], соединениями, блокирующими SH-группы фермента (ионы ртути и п-хлормеркурибензоат),

активность может быть частично восстановлена цистеином и глутатионом. ЛДГ устойчива к действию йодоацетата и йодобензоата [411; 564; 694]. Ионы меди ингибируют активность ЛДГ, которая восстанавливается под влиянием дегидрина арабидопсиса [590]. Активность ЛДГ возрастает под влиянием диоксида титана [548]. Избыток субстрата (пирувата и лактата) ингибирует активность, но эффект пирувата более выражен. Активность ЛДГ снижается при повышении концентрации пирувата выше  $10^{-4}$  М [27]. Роль димерной формы ЛДГ – восстановление пирувата, а тетрамерной - окисление лактата [126]. ЛДГ превращает пируват в лактат на последнем этапе анаэробного гликолиза с повышенным уровнем экспрессии изоформы А (ЛДГ-А) в опухолевых клетках. Поэтому ЛДГ рассматривается как перспективная мишень для терапии опухолей [780]. Оксамат (структурный аналог пирувата), производные малоновой и никотиновой кислоты ингибируют ЛДГ-А. Обнаружен ингибитор STK381370 ЛДГ-А, который взаимодействует с остатками Arg105 и Arg98 [263].

ЛДГ из печени крысы, кролика, цыпленка и человека может обратимо связываться с митохондриями *in vitro* [352; 400]. Связанный фермент на 20% менее активен, чем свободный. Таким образом, ЛДГ может находиться в клетке в 3-х состояниях: свободном, в виде комплекса с другими ферментами гликолиза и в ассоциированном со структурными белками и органеллами клетки [112; 352; 374; 400].

Несмотря на большое количество данных, посвящённых изучению свойств ЛДГ [400], механизмы ее регуляции в субклеточных органеллах при метаболической адаптации печени в условиях ОБ практически не изучены. Имеются немногочисленные сведения о структурно-функциональных изменениях изоформ ЛДГ под воздействием АФК. Наряду с использованием подхода ограничения уровня АФК, в последнее время шире стали применяться методы активной тренировки АОС за счет индукции умеренной генерации АФК, что ведет к повышению мощности всей системы антирадикальной и антиперекисной защиты и способствует общей адаптации

и биостимуляции. Наряду с использованием нормобарической гипоксии, кислородотерапии, электрохимически-активированных соединений, окислительно-восстановительных препаратов применяют АФК [776; 873] и АФА (озон, СК, NO) [308; 443; 669]. Особый интерес, проявляемый в настоящее время к изучению АФК, объясняется широким спектром их физиологических эффектов и участием во многих патологических процессах.

### **1.3. Активные формы кислорода и азота в биосистемах: биологическое значение, механизмы действия**

#### **1.3.1. Оксид азота и его роль в механизмах развития патологических процессов, применение в биологии и медицине**

Оксидом азота (окисью азота) обозначается восстановленная форма монооксида азота (NO) [255]. NO – бесцветный газ без запаха. NO имеет молекулярную массу 30,01 г/моль, температуру плавления и кипения – соответственно 163,6°C и 151,7°C, хорошо растворим в воде [193]. NO легко проникает через мембраны клеток благодаря малым размерам и отсутствию заряда [45; 72; 486]. Время жизни молекулы NO в биологических тканях 5-6 с ( $T_{1/2}$  в почках крыс – 6,41 с, миокарде – 0,1 с, крови – 0,05-0,18 с, физиологическом растворе – 6-30с, в воде без O<sub>2</sub> – в течение нескольких суток) [159]. Наличие одного неспаренного электрона на внешней  $\pi$ -орбитали обуславливает NO высокую реакционную способность [368; 586]. NO вырабатывается эндотелиоцитами, эпителиоцитами, мезангиоцитами, миоцитами, лимфоцитами, нейтрофилами, тромбоцитами, макрофагами, моноцитами, фибробластами, нейронами, гепатоцитами [227; 462].

Журнал «Science» в 1992 г. провозгласил NO молекулой года. В 1965 г. профессором, д.б.н. А.Ф.Ваниным с помощью электронного парамагнитного резонанса в биологических объектах обнаружены радикалы, обладающие гипотензивным действием и имеющие отношение к NO [135]. R.Furchgott показал, что неповрежденные эндотелиальные клетки продуцируют сигнал, названный EDRF (endothelium-derived relaxing factor). F.Murad, R.Furchgott и L.Ignarro установили, что NO, высвобождаемый из нитроглицерина и других

родственных сосудорасширяющих веществ, расширяет гладкую мускулатуру клеток [227].

Синтез NO происходит из *L*-аргинина при участии цитохром *P*-450-подобных гемопротеинов – NO-синтаз (КФ 1.14.13.39, NOS) [368; 553]: 2*L*-аргинин + 3НАДФН + 4O<sub>2</sub> + 3H<sup>+</sup> → 2*L*-цитруллин + 2NO + 3НАДФ<sup>+</sup> + 4H<sub>2</sub>O. NOS содержат домены с оксигеназной и редуктазной активностью. По структуре и локализации различают 3 изоформы NOS: эндотелиальная (*e*NOS), нейрональная (*n*NOS) и макрофагальная (*m*NOS). Молекула *n*NOS (161 kDa) содержит 1434 аминокислотных остатка, *m*NOS (131 kDa) – 1153, *e*NOS (133 kDa) – 1203. Изоформы *n*NOS и *m*NOS – цитозольные белки, *e*NOS – мембраносвязанный белок [253; 352; 374; 567]. В активный центр NOS входит железопорфириновый комплекс, содержащий цистеин или метионин. В синтез NO посредством NOS включаются 6 кофакторов: НАДФН, ФАД, ФМН, тетрагидробиоптерин, гем и кальмодулин [553]. По механизму действия и биологическому значению для организма изоформы NOS подразделяют на конститутивную (*c*NOS) и индуцибельную (*i*NOS). *n*NOS является только конститутивной, *m*NOS – только индуцибельной формой, *e*NOS в 80 % представлена конститутивной и в 20% – индуцибельной формами [723; 888]. *c*NOS является Ca<sup>2+</sup>-зависимой и кальмодулинзависимой. *i*NOS в отличие от *c*NOS не связана с мембранными белками и является цитозольным ферментом [189; 346]. Активация *c*NOS отмечается при гипоксии и вазоконстрикции сосудов [337; 685]. *i*NOS участвует в реакциях неспецифического иммунитета [369] и появляется в макрофагах, нейтрофилах, кератиноцитах, фибробластах, хондроцитах, остеокластах после индукции их медиаторами воспаления, АФК, гормонами [189; 573]. Молекула NO может находиться в 3-х электронных состояниях: •NO – нейтрально заряженный радикал; •NO<sup>-</sup> – отрицательно заряженный радикал нитроксил; •NO<sup>+</sup> – положительно заряженный радикал нитрозоний [368; 462]. NOS обладает НАДФН-диафоразной активностью [535]. НАДФН-диафораза – оксидоредуктаза, катализирующая восстановление

амидолипоевой кислоты в амид дегидролипоевой кислоты [497]. Ингибиторы NOS: N-омега-циклопорил-L-аргинин, аминугуанидин, N-монометил-L-аргинин, гемопротейны, N-нитро-L-аргининметилловый эфир, N-нитро-L-аргинин, метиленовый голубой, супероксид радикалы, этанол, глюкокортикостероиды, индометацин [594; 690]. Биологическая активность NOS стимулируется ацетилхолином, брадикинином.

Основу биохимического действия NO составляют 3 реакции: взаимодействие с гемовым и негемовым железом; реакции с SH- и NH<sub>2</sub>-группами; участие в процессах СРО [368]. Железосодержащие ферменты и белки, содержащие SH-группы, NOS, Hb, митохондриальные ферменты, ферменты цикла Кребса, синтеза белка и ДНК – клеточные мишени NO [135; 227]. Основная мишень NO – гуанилатциклаза, содержащая 4 гема – рецепторы NO [96; 320; 368; 467]. Свободнорадикальная природа NO<sup>•</sup> позволяет ему активировать или ингибировать СРО [447; 449; 450]. NO реализует свои эффекты через изменение активности VI изоформы аденилатциклазы, снижение дегидрогеназной активности глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы, АДФ-рибозилирование белков. NO образуется в клетках из нитритов и нитратов с помощью нитрит- и нитрат-редуктаз [719]. Реакции восстановления нитритов в тканях протекают с участием гемосодержащих протеинов, имеющих нитритредуктазную активность: Hb, миоглобина, цитохромоксидазы [32; 87; 391; 393; 575].

Все многообразие физиологических эффектов NO можно разделить на 3 типа: регуляторное, защитное и повреждающее действие [189; 319; 378; 822]. В *центральной и периферической нервной системе* NO активирует процесс выброса нейромедиаторов из нервных окончаний, участвует в процессах долговременной синаптической потенциации, nNOS регулирует рост и дифференцировку нейронов [226; 253]. В *сердечно-сосудистой системе* NO поддерживает вазодилатацию, регулирует кровоток, контролирует артериальное давление, индуцирует синтез эндотелиального фактора роста [398; 723]. При инфаркте миокарда [116] и опухолях [496] NO

стимулирует ангиогенез. В *пищеварительной, мочеполовой, дыхательной системах* NO вызывает расслабление гладкомышечной ткани трахеи, желудка, кишечника, мочевого пузыря, матки [368]. NO защищает слизистую желудка и гепатоциты [527]. Эндогенный NO подавляет синтез белка в гепатоцитах, ингибирует МФК I, II ЭТЦ, замедляет распад глюкозы, повышает GSH. NO регулирует почечную гемодинамику. При муковисцидозе, легочной артериальной гипертензии снижается содержание NO в выдыхаемом воздухе [1; 189; 398; 679]. В *иммунонейроэндокринной системе* NO ингибирует гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему, угнетает высвобождение катехоламинов из надпочечников [762]. Торможение активности *nNOS* способствует увеличению концентрации вазопрессина и окситоцина. NO выполняет функцию медиатора воспаления, стимулирует синтез и высвобождение провоспалительных цитокинов, лейкотриенов, хемокинов [652; 839]. NO участвует в противоопухолевой защите, патогенезе токсемий, регуляции синтеза и секреции гормонов [219; 248]. В *системе гемостаза* NO регулирует активность тромбоцитов и взаимодействия лейкоцитов со стенками сосудов [189; 226].

Действие NO опосредовано его концентрацией [587]. Малые физиологические концентрации NO ( $<10^{-6}$  M) оказывают цито- и нейропротекторное действие и обладают антиапоптотической активностью [464; 646]. В высоких концентрациях ( $>10^{-6}$  M), образованных *iNOS*, NO оказывает действие: 1) цитотоксическое; 2) антибактериальное; 3) противовирусное; 4) противогрибковое действие, ингибируя каталазу; 5) способствует развитию воспалительного процесса, нарушению баланса активности внутриклеточных сигнальных путей; 6) ингибирует дыхательные ферменты митохондрий, вызывает фрагментацию ДНК, нитрование белков, активирование ПОЛ [368; 868].

АФА представлены: оксид азота ( $\text{NO}\bullet$ ), нитроксильный анион ( $\text{NO}^-$ ), катион нитрозония ( $\text{NO}^+$ ), пероксинитрит ( $\text{ONOO}^-$ ), диоксид азота ( $\text{NO}_2\cdot$ ), нитрит анион ( $\text{NO}_2^-$ ), другие производные NO [240; 368]. *iNOS* при активации

генерирует токсичное для клеток избыточное количество NO [559; 839]. Пероксинитрит, образуемый при взаимодействии NO с  $O_2^{\cdot-}$ , обуславливает многие цитотоксические эффекты NO [368; 744; 895]. В низких концентрациях ONOO<sup>-</sup> оказывает регуляторные и протекторные свойства [227; 552]. Пероксинитрит – источник токсичного гидроксил-радикала OH<sup>•</sup>, образуемого в реакции [865]:  $NO^{\cdot} + O_2^{\cdot-} \rightarrow ONOO^- + H^+ \rightarrow ONOONH \rightarrow ONO^{\cdot} + OH^{\cdot}$ . При окислении ONOO<sup>-</sup> диссоциирует на анион нитрата (70%) и 30% радикалов (гидроксильного и NO<sub>2</sub><sup>•</sup>), следовательно, токсические свойства ONOO<sup>-</sup> проявляются в условиях ацидоза, ишемии [368]. НС и ОС обычно в организме развиваются одновременно на фоне сочетания S-нитрозирования белков с их S-тиолированием [87; 738]. Основными точками приложения ONOO<sup>-</sup> являются тиолы, CO<sub>2</sub> и металлопротеины. При взаимодействии ONOO<sup>-</sup> с тиолами при физиологических условиях образуется 1-2% S-нитрозотиолов (RSNO):  $RS^- + ONOONH \rightarrow RSNO + HOO^-$  [368]. Нитрозопероксикарбонатный анион (ONOOCOO<sup>-</sup>) – продукт реакции CO<sub>2</sub> и ONOO<sup>-</sup> [227]. N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> образуется в результате аутооксидации NO:  $2 NO + O_2 \rightarrow 2 NO_2$ ;  $NO + NO_2 \leftrightarrow N_2O_3$ , являясь источником NO<sup>+</sup> [227; 470].

NO дозозависимо ингибирует активность АДГ [52; 601]. Действие NO неразрывно связано с процессами СРО липидов и белков [88; 89; 368; 716]. NO-ергическая система, как и АОС, участвует в адаптации организма к стрессу, выполняя роль регулятора метаболизма клеток [88; 368].

NO перехватывает такие радикалы, как  $O_2^{\cdot-}$ , OH<sup>•</sup>, ROO<sup>•</sup>, тиольный (GS<sup>•</sup>). Пероксинитрит способен ингибировать Cu-Zn-СОД и Mn-СОД через нитрование ее 34-го тирозинового остатка [217; 368]. Cu и Zn, входящие в состав СОД, и высокоэнергетические свободные радикалы (радикалы с углеродным центром, липидные, NO<sub>2</sub><sup>•</sup>) – основные мишени прямого действия NO [227; 615]. Непрямое действие NO осуществляется его реактивными формами и происходит при повышении синтеза NO в результате индукции iNOS [368; 385; 868]. NO активирует антиоксидантные ферменты и

экспрессию кодирующих их генов [227; 368; 424; 425]. Антиоксидантные и прооксидантные свойства NO представлены на рис. 2.

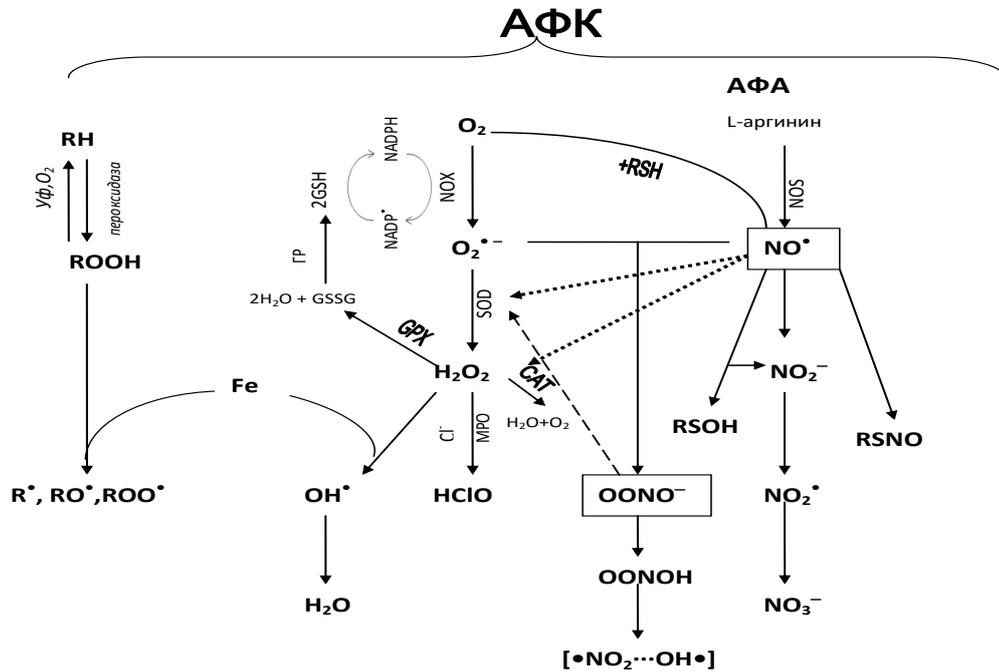


Рис.2. Схема участия оксида азота в процессах свободнорадикального окисления [368]. *Обозначение:* -----→ – ингибирование; ·····→ – активация; NO<sup>•</sup> – оксид азота; O<sub>2</sub><sup>•-</sup> – супероксид; Fe – железо; ROOH – липидные перекиси; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> – перекись водорода; R•, RO•, ROO• – липидные радикалы; NOS – синтазы окиси азота; ONOO<sup>-</sup> – пероксинитрит; NOX – НАДФН-оксидазы; SOD – супероксиддисмутаза; CAT – каталаза; Cl<sup>-</sup> – хлорид-ион; MPO – миелопероксидазы; HClO – гипохлорная кислота; OH• – гидроксильный радикал; УФ – ультрафиолетовое излучение; NO<sup>-</sup> – нитроксильный анион; NO<sup>+</sup> – катион нитрозония; NO<sub>2</sub><sup>•</sup> – диоксид азота; NO<sub>2</sub><sup>-</sup> – нитрит анион; NO<sub>3</sub><sup>-</sup> – нитрат анион; GP – глутатионредуктаза; GSSG – глутатион окисленный; GSH – глутатион восстановленный; RSNO – нитрозотиол.

NO включается в стабильные нитрозосоединения, которые запасают NO и транспортируют его к органам и клеткам-мишеням. Главными формами депонирования и транспортировки NO являются S-нитрозотиолы (нитрозосоединения оксигемоглобина, миоглобина и различных тиолов) и ДНКЖ ( $\{(RS^-)_2Fe^+(NO^+)_2\}^+$ , где RS<sup>-</sup> – низкомолекулярные или белковые группы). Депонированные формы NO обнаружены в крови и тканях. В крови депонированные формы NO представлены в виде S-нитрозоальбумина, S-нитрозогемоглобина, S-нитрозоглутатиона, N-нитрозаминов, ДНКЖ с тиоловыми группами и нитрита. В тканях важнейшими формами депонирования NO являются RSNO и ДНКЖ с тиоловыми группами. RSNO и ДНКЖ существуют в двух формах — высокомолекулярной, связанной с тиоловыми группами белков, и низкомолекулярной, связанной с тиолами,

такими как цистеин и глутатион [46; 49]. RSNO образуются, главным образом, из ДНКЖ путем транснаитрозилирования тиолов. ДНКЖ образуются в макрофагах и эндотелиальных клетках [445; 448]. Среди RSNO наиболее стабильными являются S-нитрозопротеины [202]. NO реагирует с деоксигенированными гемовыми группами с образованием в капиллярной крови  $\beta\text{HbFe}^{2+}\text{NO}$  (HbNO), а также с  $^{93}\text{cys}$ -остатками  $\beta$ -цепи Hb с образованием S-нитрозогемоглобина (SNO-Hb), который в условиях гипоксии и ишемии может служить важным источником NO [231; 232].

In vivo сера-нитрозильные комплексы железа присутствуют в двух формах: моноядерной  $[\text{Fe}(\text{SR})_2(\text{NO})_2]^-$  и биядерной  $[\text{Fe}_2(\text{SR})_2(\text{NO})_4]$  [330; 332; 356]. ДНКЖ играют важную роль в NO-зависимой регуляции клеточного метаболизма и передачи сигнала, подавляют тромбообразование, оказывают эффективное антиоксидантное действие [86; 105]. Гидроксиламин ( $\text{NH}_2\text{OH}$ , донор), L-аргинин являются эндогенными источниками NO.  $\text{NH}_2\text{OH}$  вместе с закисью азота, нитрозотиолами, NO и L-цитруллином образуется под влиянием NOS [857; 859].  $\text{NH}_2\text{OH}$  реагирует с Hb и миоглобином. Миоглобин с NO в присутствии  $\text{H}_2\text{O}_2$  окисляется с выделением NO, который окисляется до  $\text{NO}_2^-$ , а гемм-содержащие белки окисляют нитриты до нитратов [635].

К экзогенным источникам или донорам NO относят нитропруссид натрия (SNP), производные оксатриазола (GEA 3162, GEA 3175), динитрат изосорбита, SIN-1 (3-morpholinonydnonimine), SNAP (S-nitroso-N-acetylpenicillamine), SNOС (S-нитрозоцистеин), DEA/NO (комплекс диэтиламина и NO), paraNONO (1-substituted diazen-1-ium-1,2-diols), нитросорбит и нитроглицерин, синтетические доноры NO – би- и моноядерные [Fe-S] нитрозильные комплексы («красная соль Руссена», «кубан»). Красная соль и эфиры Руссена относятся к  $\mu$ -S структурному типу биядерных нитрозильных комплексов, в которых два атома железа связаны с двумя атомами серы. Выделены анионные ( $\text{Q}^+[\text{Fe}(\text{SR})_2(\text{NO})_2]^-$ , где Q – нефункциональный органический или металл-органический катион), нейтральные (состава  $\text{Fe}(\text{SR})_2(\text{NO})_2^0$ ) и катионные нитрозильные комплексы

$\mu$ -S типа [305; 314; 440; 441; 547; 574]. Би- и моноядерные ДНКЖ подавляют агрегацию тромбоцитов, снижают кровяное давление, вызывают расслабление сосудов, инициируют синтез стресс-белков, усиливающих защитные системы организма [331; 332; 445]. Под влиянием нитропруссид натрия уменьшается время лизиса фибринового сгустка, изменяется интенсивность ПОЛ [52]. Динитрат изосорбита может влиять на работу каталаз и цитохромов, ускоряя синтез NO [835].

В качестве экзогенных доноров NO в настоящее время применяются растворы ДНКЖ с тиолами природного происхождения: цистеином, глутатионом, тиосульфатом, полученными пропусканием газообразного NO через смесь сульфата железа (II) и соответствующего тиола. Синтетические ДНКЖ являются миметиками активных центров нитрозильных негемовых белков [336; 440; 857; 858]. Синтезирован новый тетранитрозильный биядерный комплекс железа с пиримидин-2-илом ( $\text{Fe}_2(\text{SC}_4\text{H}_3\text{N}_2)_2(\text{NO})_4$ ). Лиганд, входящий в состав комплекса, является антиметаболитом, широко используемым для синтеза новых противоопухолевых препаратов [331].

Первым отечественным препаратом – донором NO является оксаком, действующую основу которого составляет двуядерный ДНКЖ с глутатионом — GS,  $\{(\text{GS})_2\text{Fe}_2(\text{NO})_4\}$ , создан под руководством А.Ф. Ванина (Институт химической физики им. Н.Н.Семенова, РАН, Москва). Оксаком прошел доклиническое испытание и I фазу клинических испытаний, при которой изучена безопасность препарата в ходе однократного внутривенного введения здоровым добровольцам (5 мг/1 кг, в течение 3 мин) [76]. Оксаком обладает длительным гипотензивным действием [400; 419], восстанавливает гемодинамику в условиях геморрагического шока [308; 381].

Выявление широкого спектра физиологических функций NO в организме человека послужили основой для разработки NO-терапии, которая является новейшим подходом к лечению социально-значимых заболеваний, вызванных нарушением эндогенного уровня NO [85]. NO широко используется в кардиологии, интенсивной терапии, неонатологии, хирургии,

стоматологии, гинекологии, офтальмологии, при лечении хронических и послеоперационных ран, пульмонологии, гастроэнтерологии [442; 674].

В клинической практике установлено гипотензивное действие нитроглицерина и нитропрусида. NO, выделяющийся из нитроглицерина, оказывает кардиопротекторное действие [688; 699]. Показана нитрит-опосредованная защита от повреждений органов при шоке [502; 512]. Экзогенный аргинин оказывает защитное действие при гипероксии, гипотермии, заболеваниях печени [85; 378; 508], геморрагическом шоке [308] и лечении глаукомы [75]. Нитропруссид стимулирует поглощение глюкозы мышцами при сахарном диабете 2 типа [596]; L-аргинин регулирует уровень глюкозы, метаболические функции печени [324], стимулирует выделение гистамина из клеток крови [16], положительно влияет на окислительный метаболизм при ишемии/реперфузии печени [85; 830], гипоксии [178]. Зарегистрирован и успешно применяется в клинической практике препарат тивортин, содержащий L-аргинин и приводящий к усилению образования NO в тканях, суммарного содержания его стабильных метаболитов  $\text{NO}_2^-$  и  $\text{NO}_3^-$  в плазме крови и моче [85; 243]. В эксперименте и клинике показано, что метформин стимулирует образование NO, ДНКЖ [341], увеличивает концентрации  $\text{NO}_2^-$  в плазме, метгемоглобина в цельной крови, улучшает показатели углеводного обмена [188].

В 1993 г. опубликовано первое исследование по использованию ингаляционной формы NO (иNO) при остром респираторном дистресс-синдроме, в котором определена минимальная эффективная концентрация для улучшения оксигенации [572; 696]. В 1999г. в США одобрили ингаляцию NO как лечение легочной гипертензии у новорожденных и недоношенных детей. Газовая смесь NO в азоте зарегистрирована более чем в 20 странах мира как лекарственное средство под торговым названием INOmax® и широко применяется более 15 лет в качестве селективного легочного вазодилататора [43; 755; 815]. Впоследствии этот подход неоднократно был апробирован как в клинике, так и в эксперименте [485; 490; 507; 581; 832].

иNO приводит к улучшению вентиляционно-перфузионных соотношений, снижению фракции шунта [478; 669; 815], влияет на сосуды большого и малого круга кровообращения, обратимо связываясь с Hb, лейкоцитами, тромбоцитами и белками, влияет на тонус бронхов и сурфактантную систему легких, снижает агрегацию тромбоцитов [103; 239; 608].

Терапия иNO основана на подаче NO в дыхательные пути [267]. Разброс эффективной терапевтической концентрации NO при ингаляциях находится в пределах 5-80 ppm [442]. Стартовая терапия: 20 ppm, при необходимости дробное увеличение до 40 ppm [43]. По данным литературы основным фактором, определяющим время терапии, является состояние больного и, как правило, оказывается не более 14 суток [161] при процедуре продолжительностью 10 минут. Ингаляция низких концентраций NO (5–20 ppm) дает благоприятный терапевтический эффект [119]. Благодаря небольшим размерам, NO сразу после вдыхания проникает через альвеолярные клетки в гладкие мышцы сосудистой стенки легочных артериол, активируя гуанилатциклазу, в результате происходит вазодилатация лёгочных сосудов [170]. Недействующие в процессе вазодилатации молекулы иNO попадают в просвет лёгочных сосудов. Высокое сродство (в  $10^5 - 10^6$  раза выше, чем для  $O_2$ ) к Hb способствует проникновению иNO в эритроциты, где он связывается с оксигемоглобином (HbO<sub>2</sub>) и с восстановленным Hb [789]. При взаимодействии иNO с HbO<sub>2</sub> образуются метгемоглобин (HbFe<sup>3+</sup>) и NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, а при взаимодействии с восстановленным Hb - нитрозилгемоглобин (HbNO) и NO<sub>3</sub><sup>-</sup> [239]. HbNO обнаружен в плазме крови при ишемии, некрозе опухолей, гипертермии [271]. Большинство иNO в течение 48 часов выделяется с мочой в форме NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Оставшаяся часть иNO в виде NO<sub>2</sub><sup>-</sup> секретируется в ротовую полость слюнными железами с последующим превращением в желудке до молекулярного азота. Незначительное количество NO<sub>2</sub><sup>-</sup> в просвете кишечника восстанавливается до аммиака [529]. Имеются сведения о высокой эффективности использования экзогенного NO, генерируемого воздушно-

плазменным аппаратом «Плазон», в комплексном лечении трофических язв венозной этиологии. NO-терапия нормализует микроциркуляцию, снижает микробную обсемененность, активизирует фагоцитоз, усиливает рост фибробластов, сосудов, грануляционной ткани и эпителия [119].

Однако роль NO в патогенезе ТТ изучена недостаточно, количество публикаций невелико, а приводимые результаты носят противоречивый характер. Часть работ касается особенностей метаболизма NO при ОБ и небольшое количество работ – исследованию NO-терапии при ТТ. Выявлено снижение уровня нитратов плазмы у пациентов с ожогами [592]. Но Мохаммедом Захидом Джасимом [255] установлен рост концентрации стабильных метаболитов NO в плазме крови через сутки после нанесения ожога более чем в 3 раза, на 2, 3 и 7-е сутки после ожога концентрация нитритов и нитратов снижается, но продолжает оставаться повышенной.

NO играет важную роль в формировании шока и, как следствие, в патофизиологии ТТ, так как является медиатором воспаления, развивающимся при ожогах [255; 820; 882], а изменения интенсивности синтеза NO имеют огромное значение в развитии постожоговой дисфункции органов [255; 513; 557; 558; 569]. В ряде работ [532; 604; 606; 896] приводятся результаты изучения СРО, АОС и интенсивности образования NO при ТТ. Однако у авторов нет единого мнения о роли оксидоредуктаз в патогенезе ОБ и их взаимосвязи с показателями АОС как совокупности про- и антиоксидантных процессов и системы NO в патогенезе ТТ.

Введение в рацион аргинина, сопровождающееся повышением его содержания в плазме крови [885], повышает иммунитет, ускоряет заживление ран, увеличивает выживаемость животных при глубоких и обширных ожогах [255; 534; 569; 844], нормализует синтез белков, влияет на катаболизм мышечных белков после ТТ [229; 302], снижает проявления ОС при ТТ [255]. В экспериментах выявлено позитивное использование иNO при лечении ингаляционного поражения легких [806; 807]. Ингаляции NO способствуют ослаблению легочной артериальной гипертензии и гипоксии [734],

уменьшению легочного микрососудистого сопротивления [557] после КТТ, улучшению энергетического обмена, увеличивая активность креатинкиназы, ЛДГ, концентрации АТФ [769]. В концентрациях, превышающих 20 ppm, иNO не снижает давление в легочной артерии, но улучшает индекс работы правого желудочка за счет уменьшения сосудистой устойчивости легких.

В ряде работ указывается на безопасность ингаляций NO при лечении ожогов у взрослых с площадью поражения 19-80% и детей [806] с тяжелой дыхательной недостаточностью, так как иNO имеет потенциал для улучшения вентиляции/перфузии легких и снижения давления легочной артерии. Применение NO при КС, развивающемся при ТТ, неоднозначно. С одной стороны, NO взаимодействует с продуктами неферментативного гликирования, предотвращая их дальнейшие превращения, с другой стороны, метаболиты NO могут участвовать в образовании продуктов СРО [261]. Взаимодействуя со свободными радикалами, NO образует ковалентные связи. Поэтому актуально изучение влияния NO на особенности регуляции оксидоредуктаз крови и органов в условиях ОС и КС, сопровождающего ОБ.

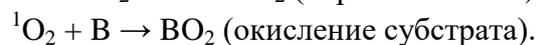
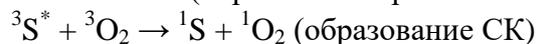
Таким образом, разнообразие эффектов NO обусловлено образованием его физиологически активных метаболитов, взаимодействием NO с разными молекулярными мишенями [189; 356; 378], носит дозозависимый характер. Но проблема выяснения механизма действия NO заслуживает пристального внимания и дальнейшего исследования. Несмотря на имеющиеся результаты, раскрывающие патогенетические механизмы ОБ [29; 72; 791], остается актуальным проведение дальнейших исследований для более точного и полного представления роли оксидоредуктаз, процессов СРО, метаболизма NO и их взаимосвязи при ТТ [29; 30; 255]. Это может являться основой для обоснования более эффективных методов лечения ТТ с применением АФК.

### **1.3.2. Биологические аспекты влияния синглетного кислорода на организм**

СК ( $^1\text{O}_2$ ) отличается от других АФК тем, что для его получения требуется лишь поглощение энергии без химической модификации

кислородных молекул. Открытие абсорбционных полос, обусловленных заселением синглетных уровней молекулярного  $O_2$ , связано с работами W.H. Wollaston (1801) и J. Fraunhofer (1814) [65].  $O_2$  составляет 21% (объемн.) атмосферного воздуха. При давлении 101,3 кПа (1 атм.) и  $t - 183^\circ\text{C}$  кислород переходит в жидкое состояние, а при  $t - 219^\circ\text{C}$  в синие кристаллы [326]. Р. Малликен в 1928г. заключил, что молекула  $O_2$  является триплетной  $^3O_2$  в основном состоянии и способна заселять два низколежащих синглетных уровня [18]. СК является одной из реакционноспособных форм  $O_2$ . Его энергия соответствует ближней ИК области [404]. СК – общий термин, применяемый для 2-х метастабильных состояний ( $a^1\Delta_g$ ,  $b^1\Sigma_g^+$ ) молекулярного  $O_2$  с более высокой энергией, чем в основном триплетном состоянии ( $X^3\Sigma_g^-$ ). СК в состоянии  $O_2(b^1\Sigma_g^+)$  проявляет свечение, образуемое при переходе  $b^1\Sigma_g^+ - X^3\Sigma_g^-$ , именуемое люминесценцией кислорода [230; 304; 404]. СК имеет высокую окислительную активность при взаимодействии с органическими веществами, участвует в биологических процессах живых организмов [650]. Отмечена наибольшая значимость использования СК в медицине в качестве агента, применяемого при лечении многих заболеваний [452]. Излучение при 1270 нм и 762 нм обусловлено дезактивацией соответственно  $^1\Delta_g$  и  $^1\Sigma_g^+$  синглетных состояний молекулярного кислорода:  $^1\Delta_g \rightarrow ^3\Sigma_g^- + h\nu$  (1270нм) и  $^1\Sigma_g^+ \rightarrow ^3\Sigma_g^- + h\nu$  (762нм). Люминесценция при 1270 нм является единственным прямым методом определения СК в растворах [268].

$O_2$  может участвовать в фотосенсибилизированных реакциях за счет тушения им триплетных возбужденных состояний сенсibilизатора и образования электронно-возбужденного (синглетного) молекулярного  $O_2$ , который вступает затем в химические реакции с субстратами окисления. Эти процессы можно представить химическими уравнениями:



Химическую активность проявляет только  $^1\Delta_g$ -состояние молекулярного  $O_2$ , которое ответственно за фотодинамические реакции. Для

$^1\Delta_g$ -состояния характерны реакции согласованного присоединения: молекула  $O_2$  соединяется с молекулами реагентов, образуя циклическую перекись [304].  $^1O_2$  (радиус действия ~0.3 мкм) легко окисляет ненасыщенные соединения, образуя гидропероксиды, диоксетаны, эндопероксиды и др. В белках основная мишень – 6 аминокислот: триптофан, гистидин, метионин, тирозин, цистеин, фенилаланин. В нуклеиновых кислотах окисляются 4-тиоуридин и гуанозин. В липидах субстратом являются молекулы ненасыщенных жирных кислот и холестерин. Субстратами окисления служат также токоферолы, тиолы, каротиноиды, порфирины и хлорофиллы, аскорбиновая кислота, восстановленные переносчики электрона, как, например, НАДН и НАДФН [304]. Биологические последствия окисления СК многообразны: повреждение структуры биомембран, приводящее к гемолизу эритроцитов; инактивация ферментов; индукция эритемы и отеки кожи и другие [65]. Методы регистрации СК подразделяют на физические, химические и биохимические [183]. Молекулы СК ( $a^1\Delta_g$ ) благодаря высокой реакционной способности играют основную роль в природных фотобиологических и фотохимических процессах [214; 304; 625; 676].

По химическим свойствам СК – сильный окислитель. СК участвует в реакциях присоединения по двойным связям. По своим свойствам он занимает промежуточное положение между атомарным хлором и молекулярным хлором. В силу этого, генерация СК приводит к деструкции среды или каких-либо компонентов системы [891]. Данный эффект – фотоиндуцированная деструкция под действием СК, получил название фотодинамического эффекта. Тушение СК может осуществляться за счет его вовлечения в химические реакции по физическому механизму.  $\beta$ -каротин – известный тушитель СК, имеющий триплетное состояние, расположенное ниже уровня СК, и тушит СК по интеркомбинационному механизму, аналогичному механизму триплет-триплетного переноса энергии [404].

С СК связывают некоторые деструктивные реакции: СК может участвовать в процессах, вызывающих фотоповреждение сетчатки глаза и

фотоканцерогенез [800], молекулы СК инициируют окисление липидов, белков, нуклеиновых кислот и, в результате, некроз и апоптоз [304; 623; 676; 737]. С другой стороны, СК имеет широкое практическое применение [183]. Его используют в органическом синтезе [521], химическом синтезе, при очистке сточных вод от фенолов, серо- и фосфорсодержащих веществ, в йод-кислородных химических лазерах [223], в медицине при фотодинамической терапии [26; 147; 250; 871], лечении сахарного диабета [327] и вирусных заболеваний [794; 873], в фотодинамической инактивации бактерий [776], для стерилизации донорской крови и стимуляции биопроцессов в организме. Кроме того, растения используют СК для защиты от патогенов [565; 794]. Как альтернативный метод стимуляции АОС существует способ немедикаментозной терапии СК, предложенный в 1996 г. шведским ученым Antony Van der Valk, в виде ингаляций и активированной воды [327; 328].

Применение СК с терапевтической целью обеспечивает: активацию биохимических и биофизических реакций в организме; нормализацию АОС; повышение иммунитета; стабилизацию аэробного обмена; улучшение реологии крови; нормализацию деятельности сердечно-сосудистой системы; восстановление ионной проницаемости мембран клеток; дезинтоксикацию организма; улучшение тканевого дыхания, коронарного и мозгового кровообращения; снижение гипоксии тканей; стимуляцию регенеративных процессов, уменьшение воспалительных процессов; нормализацию артериального давления; восстановление слизистой оболочки бронхов и нормализацию функции внешнего дыхания; ингибирование опухолевого и метастатического процессов; снижение уровня лактата; увеличение уровня Нв [326; 328; 805]. Синглетно-кислородная терапия (СКТ) была использована при лечении заболеваний соединительной ткани; бронхо-легочной системы (бронхиальная астма, бронхиты); сердечно-сосудистой системы (сердечная недостаточность, гипертоническая болезнь, ИБС и др.); неврологических болезней (патология сосудов головного мозга, вегетососудистая дистония, невроты); сахарного диабета; иммунных заболеваний [326; 794; 805].

## Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Объем и дизайн исследования

Работа выполнена в отделении экспериментальной медицины с виварием ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России. Работа состояла из экспериментальной и клинической части, общее количество материала и его распределение по группам представлено в табл.3. Протоколы опытов с участием животных и людей одобрены и утверждены Локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России (протокол №5 от 16.07.2012, протокол №6 от 11.09.2012, протокол №2 от 20.02.2016).

Для решения поставленных задач проведены серии экспериментов, в которых осуществлялось: 1 – исследование системы антирадикальной и антиперекисной защиты при экспериментальной КТТ (I этап); 2 – определение направленности изменений каталитических и кинетических свойств оксидоредуктаз и выявление их взаимосвязи с показателями окислительного метаболизма у животных с КТТ (II этап); 3 – обоснование возможность коррекции активности оксидоредуктаз АФК и АФА (III этап); 4 – изучение характера действия ингаляций NO на активность оксидоредуктаз при КТТ (IV этап); 5 – оценка эффективности воздействия ДНКЖ на активность оксидоредуктаз при КТТ (V этап); 6 – исследование влияния ингаляций СК на активность оксидоредуктаз при ОБ (VI этап) (табл. 3).

Таблица 3

#### Биологический материал, этапы и параметры исследования

№ этапа	Решаемые задачи	Группы исследования	Методы исследования	Биологический материал	Кол-во анализов
I	Исследовать систему антирадикальной и антиперекисной защиты при КТТ	1. Контрольная (здоровые животные) 2. Опытная (КТТ)	Биохемилюминесценция, Оценка концентрации МДА	Плазма и эритроциты крови, субклеточные фракции органов	2576
			Определение активности ГР, каталазы, СОД	Гомогенат, митохондрии, цитозоль легких, печени, почек, сердца, эритроциты крови	3588
			Выделение субклеточных фракций органов	Ткань легких, печени, почек, сердца	1104
			Электронно-	Митохондрии печени	47

			микроскопические исследования		
II	Определить направленность изменений каталитических и кинетических свойств оксидоредуктаз и выявить их взаимосвязь с биохимическими показателями у экспериментальных животных с КТТ	1. Контрольная (здоровые животные) 2. Опытная (КТТ) 3. Выделение, частичная очистка, изучение свойств и особенностей регуляции АлДГ	Определение активности АлДГ, Гл-6-фДГ, ЛДГ	Гомогенат, митохондрии, цитозоль легких, печени, почек, сердца, эритроциты крови	7124
			Определение активности АДГ	Субклеточные фракции легких, печени, почек, сердца	2208
			Определение концентрации глюкозы и лактата	Плазма и эритроциты крови	368
			Определение активности цитохром с оксидазы, СДГ	Митохондрии легких печени, почек, сердца	736
			Ионообменная хроматография	Ткань печени	92
			Определение кинетических характеристик ферментов	Ткань легких, печени, почек, сердца, эритроциты крови	12193
			Выделение субклеточных фракций	Ткань легких, печени, почек, сердца	1104
			Определение концентрации нитритов и нитратов	Сыворотка крови, субклеточные фракции легких, печени, почек, сердца	2392
III	Обосновать возможность коррекции активности оксидоредуктаз АФК и АФА	1. Эксперимент in vitro на консервированной донорской крови без воздействий 1.1. Образцы крови без воздействий 1.2. Образцы крови, обработанные NO, ДНКЖ или СК 2. Эксперимент in vivo на интактных животных 2.1. Контроль (без воздействий) 2. Опытная (+NO, ДНКЖ или СК) 3. Хроническая токсичность 3.1. Контроль (без воздействий) 3.2. Воздействие на протяжении 30 суток NO или СК 3.3. Воздействие на протяжении 30 суток NO, СК + восстановительный период (30 суток)	Биохемиллюминесценция, оценка концентрации МДА	Плазма и эритроциты крови, ткань легких, печени, почек, сердца	6006
			Определение активности ГР, каталазы, СОД	Ткань легких, печени, почек, сердца, эритроциты крови	8379
			Определение концентрации нитритов и нитратов	Сыворотка крови, субклеточные фракции легких, печени, почек, сердца	306
			Определение активности АлДГ, ЛДГ, Гл-6-фДГ	Ткань легких, печени, почек, сердца, эритроциты крови	11235
			Определение активности АДГ	Ткань легких, печени, почек, сердца	5040
			Определение активности СДГ, цитохром с оксидазы	Митохондрии легких, печени, почек, сердца	1680
			Определение концентрации глюкозы и лактата	Плазма и эритроциты крови	1092
			Выделение субклеточных фракций	Ткань легких, печени, почек, сердца	2520
			IV	Изучить характер действия ингаляций	1. Контрольная (животные с КТТ)

	NO на активность оксидоредуктаз при КТТ	2. Опытная (КТТ+NO)	концентрации МДА	печени, почек, сердца	
			Определение активности ГР, каталазы, СОД	Ткань легких, печени, почек, сердца, эритроциты крови,	585
			Определение активности СДГ, цитохром с оксидазы	Митохондрии легких, печени, почек, сердца	120
			Определение концентрации нитритов и нитратов	Сыворотка крови, субклеточные фракции легких, печени, почек, сердца	390
			Определение активности АлДГ, ЛДГ, Гл-6-фДГ	Ткань легких, печени, почек, сердца, эритроциты крови,	780
			Определение активности АДГ	Ткань легких, печени, почек, сердца	360
			Определение концентрации глюкозы и лактата	Плазма и эритроциты крови	60
			Выделение субклеточных фракций	Ткань легких, печени, почек, сердца	180
V	Оценить эффективность воздействия ДНКЖ на активность оксидоредуктаз при КТТ	1. Контрольная (животные с КТТ) 2. Опытная (КТТ+ДНКЖ)	Биохемиллюминесценция, Оценка концентрации МДА	Плазма и эритроциты крови, ткань легких, печени, почек, сердца	840
			Определение активности ГР, каталазы, СОД	Ткань легких, печени, почек, сердца, эритроциты крови,	1170
			Определение активности СДГ, цитохром с оксидазы	Митохондрии легких, печени, почек, сердца	240
			Определение концентрации нитритов и нитратов	Сыворотка крови, субклеточные фракции легких, печени, почек, сердца	780
			Определение активности АлДГ, ЛДГ, Гл-6-фДГ	Ткань легких, печени, почек, сердца, эритроциты крови	1560
			Определение активности АДГ	Ткань легких, печени, почек, сердца	720
			Определение концентрации глюкозы и лактата	Плазма и эритроциты крови	120
			Выделение субклеточных фракций	Ткань легких, печени, почек, сердца	360
VI	Исследовать влияние ингаляций СК на активность оксидоредуктаз при ОБ	1. Контрольная (животные с КТТ) 2. Опытная (КТТ+СК) 3. Здоровые люди 4. Пациенты с ТТ 5. Пациенты с ТТ после курса ингаляций СК	Биохемиллюминесценция, Оценка концентрации МДА	Плазма и эритроциты крови, ткань легких, печени, почек, сердца	848
			Определение активности ГР, каталазы, СОД	Ткань легких, печени, почек, сердца, эритроциты крови	906
			Определение активности АлДГ, ЛДГ, Гл-6-фДГ	Ткань легких, печени, почек, сердца, эритроциты крови	1315
			Определение активности АДГ	Ткань легких, печени, почек, сердца	360
			Определение концентрации глюкозы и лактата	Плазма и эритроциты крови	488

			Выделение субклеточных фракций	Ткань легких, печени, почек, сердца	180
Итого					82572

Для исследования состояния про- и антиоксидантной системы, особенностей регуляции окислительно-восстановительных ферментов крови и органов при КТТ, а также для оценки эффектов воздействия АФК и АФА в норме и при КТТ использовали лабораторных животных.

Эксперименты были проведены на 482 белых половозрелых крысах-самцах линии Wistar, полученных из филиала «Столбовая» Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Научного центра биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства» (Филиал «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России, г. Москва). Все животные содержались в стандартных условиях вивария в клетках при свободном доступе к пище и воде на рационе питания, согласно нормативам ГОСТа «Содержание экспериментальных животных в питомниках НИИ» [356]. Содержание животных в виварии ПИМУ осуществлялось согласно «Правилам по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» [318]. Условия работы с животными соответствовали принципам биологической этики, требованиям «Международной Хельсинской конвенции о гуманном отношении к животным» (1972), правилам Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях ET/S 129 (Страсбург, 18 марта 1986), директивам 86/609 ESC [315;356], требованиями Приказа МЗ России № 267 от 19.06.03 «Об утверждении правил лабораторной практики в Российской Федерации» [99], требованиям к обращению с животными (Приказ Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 3 сентября 2009 г. № 315-ст.), приказу Минздрава России от 01.04.2016 №199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики». Выведение животных из эксперимента осуществляли путем декапитации, учитывая требования гуманности, в соответствии с приложением №4 к Правилам проведения работ с

использованием экспериментальных животных – приложение к приказу МЗ СССР №755 от 12.08.1977 «О порядке проведения эвтаназии (умерщвления животного)» [316; 317].

Животных разделяли по группам с помощью стратифицированной рандомизации со стратификацией по массе тела и возрасту [69]. Исследование проведено на крысах-самцах массой 200-250 г. в возрасте 4-5 месяцев. После 14 – дневной адаптации к условиям местного вивария и карантина [356] сформировали 24 группы крыс, проведено 13 серий экспериментов (табл. 4).

Таблица 4

Количество животных в экспериментальных группах при моделировании комбинированной термической травмы и в условиях воздействия активных форм кислорода

№ серии	Экспериментальные группы		Условия эксперимента	n
I	Интактные здоровые крысы			47
II	Интактные здоровые крысы		Внутрибрюшинно вводили 0,9% раствор NaCl	15
			Внутрибрюшинно 10% тетурам 0,2 г/кг	15
III	КТТ		1-е сутки	15
			7-е сутки	15
			10-е сутки	15
			+тетурам, 10-е сутки	15
			Исследование особенностей регуляции АлДГ при КТТ	45
IV	Интактные здоровые крысы в условиях ингаляций NO	NO, 20ppm	10 суток	15
		NO, 50 ppm	10 суток	15
		NO, 100 ppm	10 суток	15
V	Интактные здоровые крысы в условиях ингаляций СК		10 суток, мощность аппарата 100%	15
VI	Интактные здоровые крысы в условиях введения 10% р-ра ДНКЖ (1 мл; 0,3 мкМоль/л)		10 суток	15
			+тетурам, 10 суток	15
VII	Интактные здоровые крысы в условиях ингаляций NO (РФЯЦ-ВНИИЭФ, г. Саров)	NO, 20ppm	30 суток	15
		NO, 50 ppm	30 суток	15
		NO, 100 ppm	30 суток	15
		NO, 20ppm	60 суток	15
		NO, 50 ppm	60 суток	15
		NO, 100 ppm	60 суток	15
VIII	Интактные здоровые крысы в условиях ингаляций СК (при мощности генератора 100%)		30 суток	15
			60 суток	15
IX	КТТ + ингаляции NO, 20 ppm		10 суток	15
X	КТТ + ингаляции СК, 100%		10 суток	15
XI	КТТ + введение 10% р-ра ДНКЖ (1мл; 0,3 мкМоль/л)		10 суток	15
			+тетурам, 10 сутки	15

ХII	КТТ + иNO (20ppm) + введение ДНКЖ	10 суток	15
ХIII	КТТ+физиологический раствор	10 суток	15
Всего			<b>482</b>

В III серии экспериментов для исследования состояния про- и антиоксидантной системы, особенностей регуляции оксидоредуктаз крови и органов при КТТ животных разделили на группы: 1 - контрольная (здоровые животные); 2, 3, 4 – опытные (животные на 1, 7, 10 сутки после КТТ, что соответствует периодам ОБ). В качестве экспериментальной модели выбрана КТТ. КТТ, включающая термоингаляционное воздействие и ожоги кожных покровов, встречается у 58% пострадавших, поступающих в ожоговые центры РФ [60; 186; 279]. Наличие ингаляционной травмы отягощает течение ОБ, особенно в первые сутки [260], вызывая развитие легочных осложнений, итогом которых является летальный исход в 50% случаев [69; 285]. Одно из центральных мест среди осложнений ожогового шока при КТТ занимает респираторный дистресс-синдром [111].

КТТ наносили в камере для ингаляции, представляющей собой эксикатор, выполненный из огнеупорного стекла. Эксикатор снабжен поддоном (10-12см от дна эксикатора). На дно камеры устанавливали чашку Петри с сухим горючим материалом (опилки), который поджигали. Крысы под наркозом (Золетил 100 (60 мг/кг) + Ксила (6 мг/кг)) получали контактный термический ожог на площади 20% поверхности тела. Дополнительно оказывали термоингаляционное воздействие горячим воздухом и продуктами горения в течение 20-30 сек [60; 356]. При воспроизведении модели КТТ, обеспечивающей адекватное реальным условиям термо- и ингаляционное поражения, у всех животных присутствовали патологические изменения кожи. По результатам гистологического исследования установлено, что в 1сутки после КТТ в краях ран у животных наблюдалось поражение эпидермиса (некробиоз), дермы (сосочкового и сетчатого слоев), проявляющееся отеком и кровоизлияниями в рыхлой соединительной ткани и жировой клетчатке. В проходящих здесь кровеносных сосудах содержались тромбы. Мышечные волокна собственной мышцы кожи были в состоянии

дистрофии: набухшие, вакуолизированные. Через 3 суток наступила гибель 60% животных с КТТ. На 7-е сутки у крыс с КТТ на фоне появления участков краевой эпителизации ран обнаруживались очаги деструкции и лизиса вновь образующегося эпителия. Через 10 суток после КТТ в ранах была картина воспаления с начальными признаками заживления. Рана покрыта струпом, состоящим из некротизированных тканей (эпидермиса, дермы), а в центре раны, где ожог наиболее глубок, включалась и собственная мышца кожи. По периферии мышечных волокон отмечалась пролиферация ядер миоцитов. При отсутствии лечения у животных клинически развивался симптомокомплекс ОБ: истощение, потеря в весе (кахексия), вялость, слабость, низкая двигательная активность, сниженный аппетит [60].

Животных выводили из эксперимента после КТТ путем декапитации с предварительной перерезкой сонной артерии под наркозом [356] (Золетил 100 (Zoletil 100; тилетамин; золазепам; Virbac S.A., Virbac, France) + XylaVET (Pharmamagist Ltd., Венгрия) на 1, 7 и 10 сутки. В крови и субклеточных фракциях печени, сердца, почек, лёгких определяли интенсивность СРО (биохемилюминесцентный анализ, концентрация МДА), активность оксидоредуктаз, концентрации глюкозы и лактата, нитритов и нитратов. Кровь для исследований забирали из шейной артерии и стабилизировали 3,8% раствором цитрата натрия (9:1) [352]. Плазму отделяли, центрифугируя кровь при 1600g в течение 10 мин. Эритроциты двукратно отмывали в 0,9% растворе NaCl (Braun, Германия) путем центрифугирования 10 мин при 1600g на центрифуге CM-6 (ELMI, Латвия) [363-367].

Поскольку одним из ведущих звеньев патогенеза ОБ является ОС, как следствие, КС [782; 840], следующий фрагмент работы посвящен исследованию особенностей регуляции АлДГ [883]. Активность АлДГ определяли в эритроцитах, тромбоцитах и плазме крови крыс [155]. Тромбоциты осаждали центрифугированием плазмы 10 мин при 4000 об/мин. Осадок тромбоцитов отделяли от плазмы и ресуспендировали в дистиллированной воде. Тромбоциты разрушали троекратным

замораживанием. Эритроциты дважды промывали в физиологическом растворе [354]. Для исследований использовали гемолизат эритроцитов в дистиллированной воде в соотношении 1:40.

Для выявления топохимии мембранной формы АлДГ эритроцитов исследовали кровь здоровых крыс, которую стабилизировали 3,8% раствором цитрата натрия (Вектон, Россия) (9:1). Эритроциты осаждали на центрифуге СМ-6 центрифугированием при 800g [131; 354] в течение 10 мин, четырежды промывали 5-кратным объемом 0,15М NaCl с 10мМ трис-HCl (ДиаМ, Россия) (рН 7,4). Отмытые эритроциты гемолизировали: пробы эритроцитов по 0,3 мл помещали в пробирки с 10 мл 5 мМ трис-HCl (рН 7,4) и с 1 мМ ЭДТА (Вектон, Россия). Через 30 мин гемолизат центрифугировали при 16000g в течение 10 мин [222]. Активность АлДГ определяли в тенях эритроцитов и супернатанте. Все процедуры производили при  $t=0-4^{\circ}\text{C}$ . Солюбилизацию эритроцитарной АлДГ проводили путем однократного суспендирования теней эритроцитов в 0,15 М и 0,3 М растворах KCl [131] (Агат-Мед, Россия). Спустя 20 минут суспензии центрифугировали 10 мин при 15000g. Об эффективности солюбилизации судили по разнице в активности АлДГ в исходных суспензиях теней, супернатантах и суспензиях теней и супернатантах после солюбилизации. Процедуру солюбилизации фермента с мембраны повторяли троекратно.

Известно о воздействии ионов  $\text{Mg}^{2+}$  на активность изоферментов АлДГ [849; 850]. Под влиянием  $\text{Mg}^{2+}$  активность митохондриальной АлДГ возрастает, а фермента цитозоля – уменьшается. По данным И. М. Матвеевой с соавт. [242] АлДГ эритроцитов идентична АлДГ цитозоля печени, поэтому представляло интерес изучить влияние  $\text{Mg}^{2+}$  на активность эритроцитарной АлДГ [357]. Для этой цели использовали образцы крови здоровых крыс и крыс с КТТ, стабилизированной 3,8% раствором цитрата натрия (9:1). Эритроциты осаждали центрифугированием при 800g в течение 10 мин. Плазму и лейкоциты удаляли. Эритроциты четырежды промывали 5-кратным объемом 0,15 М NaCl с 10мМ трис-HCl (рН 7,4) [357]. Активность АлДГ

определяли в эритроцитах крови. Для исследований использовали гемолизат эритроцитов в дистиллированной воде (1:40). В условиях *in vitro* 1,7 %  $MgCl_2$  (ДиаМ, Россия; Kirsch Pharma, Germany) вносили в среду для определения активности АлДГ (10 мкл на пробу объемом 300 мкл). Универсальный ингибитор активности АлДГ тетурам (ОАО «Татхимфармпрепараты», Россия) в условиях *in vitro* также вносили непосредственно в среду для определения активности АлДГ (10 мкл на пробу объемом 300 мкл) [357].

A. Yoshida et al. [883] отметили наличие генетических изменений АлДГ при патологии [353]. W.H. Lewis, K.K. Sun [657] были проведены исследования на сопоставление степени гипертрофии шрамов у пациентов с ранами от ожогов с дефицитом АлДГ<sub>2</sub>: у людей с ТТ аллель, ответственная за гипертрофию послеожогового шрама, – доминирующая. Однако работы по изучению АлДГ в отдаленные сроки после КТТ в проанализированной литературе не обнаружены. Поэтому представляло интерес изучить влияние КТТ на активность АлДГ в печени, эритроцитах у потомства крыс, перенесших КТТ [353; 359]. В первые 7 суток после КТТ внутрибрюшинно вводили по 10 мл 0,9% раствора NaCl 2 раза в сутки в качестве противошоковой терапии. Через 5 недель раны зажили, крысы попарно допущены к скрещиванию. После достижения животными половой зрелости продолжено скрещивание внутри популяции. Исследовали активность АлДГ в гомогенате печени и гемолизате эритроцитов (1:40) крыс без ожога, крыс с КТТ спустя 6 месяцев после поражения и их потомства (животных I и II поколений в возрасте 6 месяцев) [353]. Кроме того исследования *in vitro* провели на 36 образцах крови больных, лечившихся в ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России. Кровь больных с площадью поражения от 20 до 60% поверхности тела изучали сразу после поступления и спустя 6 – 12 месяцев после травмы [352;359]. Участники эксперимента подписывали разрешение на проведение исследования:

**ФОРМА ИНФОРМИРОВАННОГО СОГЛАСИЯ ПАЦИЕНТА НА ПРОВЕДЕНИЕ КЛИНИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЙ**

**1. НАЗВАНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Вам предлагается принять участие в клинических испытаниях по теме «».

Исследование утверждено на заседании Проблемной комиссии (Протокол № от ). Одобрено Локальным Комитетом по Этике

(Протокол № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_).

ФГБУ «ПФМИЦ» Минздрава России включено в перечень федеральных государственных учреждений, подведомственных Министерству Здравоохранения Российской Федерации, осуществляющих проведение медицинских испытаний изделий медицинского назначения отечественного и зарубежного производства для целей государственной регистрации.

## 2. ЦЕЛЬ

## 3. ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ ТЕХНОЛОГИИ

## 4. ПРОЦЕДУРА (отличие от традиционных методов лечения или Стандартов и положительный эффект по сравнению с ними)

## 5. ПРАВО НА ВЫБЫВАНИЕ ИЗ ИССЛЕДОВАНИЯ

Ваше участие в данном научном исследовании является добровольным. В любое время вы можете принять решение о прекращении участия в исследовании. Ваше решение прекратить участие в исследовании никоим образом не повлияет на порядок предоставления вам медицинской помощи и отношение к вам сотрудников ФГБУ «ПФМИЦ» Минздрава России.

Со своей стороны врач-исследователь также имеет право прекратить ваше участие в исследовании в тех случаях, когда это соответствует вашим интересам, а именно: при ухудшении вашего состояния, ненадлежащем выполнении вами инструкций, а также при прекращении исследования.

## 6. АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ ВАРИАНТЫ

В случае, если Вы решите не участвовать в данном исследовании, возможно выполнение Вам альтернативного лечения с использованием имеющейся в клинике аппаратуры и технологий.

## 7. ПОБОЧНЫЕ ЭФФЕКТЫ (по сравнению с традиционными методами лечения или Стандартом)

В случае развития нежелательных последствий, последние будут устранены за счёт центра.

## 8. КОНФИДЕНЦИАЛЬНОСТЬ

Все данные полученные в ходе данного исследования, являются конфиденциальными и будут использоваться только в научных целях. Результаты исследования могут быть опубликованы в медицинской литературе или журналах и представлены на научных конференциях, а также использованы в образовательных целях. Однако никакая личная информация в материалах, предназначенных для обучения или презентации широкому кругу лиц, раскрыта не будет. Ваши медицинские записи, касающиеся исследования, будут в соответствии с законодательством храниться в течение, как минимум, 25 лет.

## 9. КОНТАКТЫ

## 10. СОГЛАСИЕ

«\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ г.

Ф.И.О. пациента: \_\_\_\_\_

Подпись пациента: \_\_\_\_\_

Расписался в моем присутствии:

Врач (должность, Ф.И.О.): \_\_\_\_\_

Подпись лечащего врача: \_\_\_\_\_

Для выяснения особенностей функционирования АлДГ при ТТ провели частичную очистку, изучение каталитических и кинетических свойств АлДГ из печени крыс в условиях нормы и ТТ. Для получения ферментного препарата АлДГ использовали метод очистки, включающий стадии: фракционирование белков сульфатом аммония (Реахим, Россия) в пределах насыщения 40-70%, гель-фильтрацию на сефадексе G-25 (Sigma-Aldrich, USA), ионообменную хроматографию на ДЭАЭ-целлюлозе (Reanal, Hungary) [358; 661]. Опыты проводили в 3-4-кратной биологической повторности, аналитические определения для каждой пробы – в 2-х повторностях [358]. Навеску печени (5 г.) измельчали ножницами, помещали в стеклянный гомогенизатор с тефлоновым пестиком. Измельчение проводили в течение 3 - 4 минут в 1 мМ фосфатном буфере (рН 7,4) (ДиаМ, Россия), содержащем 1 мМ ЭДТА. Конечное разведение гомогената составляло 1:2. Конечный объем фосфатного буфера, пошедшего на гомогенизирование всей навески, составил 10 мл. Полученный гомогенат выдерживали при 0°С 10 мин, затем центрифугировали 20 мин при 1000 g ( $t = 0^{\circ} - +2^{\circ}\text{C}$ ) [363; 399]. Рыхлый

осадок, содержащий ядра и неразрушенные клетки, отбрасывали. Для осаждения митохондрий надосадочную жидкость центрифугировали на центрифуге Multifuge 1 S-R (Германия) 25 минут при 22000g. После центрифугирования надосадочную жидкость использовали для дальнейшего выделения АлДГ. Для фракционирования белков использовали сульфат аммония, добавляя его небольшими порциями к полученному после второго центрифугирования экстракту при помешивании до 52% насыщения, выдерживали при 0°C 10 минут и центрифугировали 25 мин при 22000g. Осадок отбрасывали, к надосадочной жидкости добавляли сульфат аммония до 72% насыщения и повторяли центрифугирование. Осадок после центрифугирования растворяли в 1 мМ фосфатном буфере, содержащем 1 мМ ЭДТА (15 мл), экстрагировали при 0°C 24 часа. Полученный раствор обессоливали на сефадексе G-25 и подвергали хроматографическому разделению. Колоночную хроматографию [763] проводили с использованием колонки (30×1 см) и анионообменника ДЭАЭ-целлюлозы. Колонку промывали раствором фосфатного буфера, содержащим ЭДТА. Фракции собирали вручную в течение 5 минут по 1 мл, в них определяли активность АлДГ и количество белка.

В IV серии исследований было изучено ингаляционно-наружное влияние газообразного NO на каталитические и кинетические свойства оксидоредуктаз крови и органов интактных животных, осуществленное в эксикаторе. Преимущество такого пути введения NO в том, что при ингаляции он вызывает дилатацию только тех сосудов, которые прилегают к вентилируемым альвеолам, происходит шунтирование крови от плохо к хорошо вентилируемым участкам легких, приводя к уменьшению нагрузки на правый желудочек и улучшению оксигенации крови [365; 507; 581]. Синтез NO-содержащей газовой смеси производили с помощью экспериментального генератора NO, разработанного в Российском федеральном ядерном центре, Всероссийском научно-исследовательском институте экспериментальной физики (РФЯЦ-ВНИИЭФ, г. Саров).

Возможный диапазон вырабатываемых им концентраций NO составляет от 20 до 200 ppm [41; 238; 365]. Животные получали иNO (концентрации: 20, 50 и 100 ppm), ежедневно в течение 10 дней продолжительностью 10 мин., скорость подачи газовой смеси – 2 л/мин.

В V серии экспериментов изучено влияние СК на особенности регуляции оксидоредуктаз тканей интактных животных. Применение СК осуществляют ингаляционным способом обогащенных СК водных растворов в течение 10 минут после их приготовления [326]. Крысы получали 10-дневный курс ежедневных ингаляций газового потока, содержащего СК (по 10 мин), в эксикаторе. Генерацию СК осуществляли с помощью аппарата «Airnergy» (Германия) при мощности 100% [236; 366].

В VI серии экспериментов изучено влияние ДНКЖ на особенности регуляции оксидоредуктаз крови и органов интактных животных. Здоровым животным ежедневно в течение 10 дней внутрибрюшинно вводили 10%-ый раствор ДНКЖ (1 мл; 0,3 мкмоль/л). ДНКЖ с глутатионом получали по методике, разработанной А.Ф. Ваниным [46; 47; 480], смешивая 300мМ NaNO<sub>2</sub>, 200мМ GSH (Reanal, Hungary) и раствор FeSO<sub>4</sub> (Вектон, Россия). Концентрацию ДНКЖ определяли спектрофотометрическим методом на спектрофотометре Power Wave XS (Bio-Tek, USA) при  $\lambda=310$  и  $\lambda=360$ нм[356]. Контроль – здоровые крысы, которым ежедневно внутрибрюшинно вводили 1 мл 0,9% раствора NaCl. Выведение крыс из эксперимента в IV – VI сериях проводили декапитацией под комбинированным наркозом через 10 суток.

Однако применение АФК приводит к интенсификации СРО, активации ПОЛ биологических мембран, направленных на адаптивное в условиях гиперметаболизма повышение клеточной проницаемости [365]. В связи с этим актуальна проблема изучения особенностей регуляции активности оксидоредуктаз в условиях хронического воздействия NO и СК на организм для выявления степени токсичности АФК и эффективности длительной терапии АФК [365; 366]. Согласно современным требованиям к изучению общетоксического действия фармакологических веществ [316; 318]

продолжительность их введения зависит от предполагаемой длительности использования фармакологического препарата в клинике и составляет 1 месяц в хроническом эксперименте при 7-14 дневном курсе лечения.

В VII серии экспериментов изучено влияние NO на каталитические и кинетические свойства оксидоредуктаз intactных крыс при их длительном ингаляционно-наружном применении. Крысы на протяжении 30 суток ежедневно ингалировались NO в концентрациях 20ppm, 50ppm или 100ppm соответственно по 10 минут и затем 30 суток не подвергались никаким манипуляциям [365]. Синтез газовой смеси производили с помощью аппарата для генерации NO (РФЯЦ-ВНИИЭФ, г. Саров).

В VIII серии экспериментов исследовали длительное влияние газового потока, содержащего СК от аппарата «Airnergy» при мощности генератора 100%, на каталитические и кинетические свойства оксидоредуктаз intactных крыс. Крысы были подвергнуты ежедневному ингаляционно-наружному воздействию СК (по 10 минут) в эксикаторе 30 дней и затем 30 суток не подвергались манипуляциям [366]. Крыс VII, VIII серий выводили из эксперимента на 30 и 60 сутки путем декапитации под наркозом.

В IX серии экспериментов изучено влияние иNO на активность оксидоредуктаз крыс с КТТ. Ингаляционно-наружное воздействие NO при КТТ осуществляли в эксикаторе ежедневно в течение 10 дней по 10 мин, скорость подачи газовой смеси – 2 л/мин. Синтез газовой смеси производили с помощью аппарата для генерации NO (РФЯЦ-ВНИИЭФ, г. Саров).

В X серии экспериментов исследовано влияние 10-дневного курса (по 10 мин) ингаляций газового потока, содержащего СК от аппарата «Airnergy» при мощности 100%, на особенности регуляции оксидоредуктаз крыс с КТТ.

В XI серии экспериментов изучено влияние ДНКЖ на особенности регуляции оксидоредуктаз крыс с КТТ, которым ежедневно делали внутрибрюшинные инъекции 10%-ого раствора ДНКЖ в физиологическом растворе (1:9 по объему) (1 мл; 0,3 мкмоль/л) в течение 10 суток.

В XII серии экспериментов изучено совместное влияние ингаляций NO и ДНКЖ на особенности регуляции оксидоредуктаз крыс с КТТ, которые ежедневно получали ингаляции NO-содержащей воздушной смеси (концентрация NO – 20 ppm) и внутрибрюшинно 1мл р-ра ДНКЖ (0,3 мкмоль/л) в течение 10 суток. Контроль в XI и XII сериях экспериментов представлен крысами с КТТ, которым ежедневно внутрибрюшинно вводили 1 мл 0,9% раствора NaCl. Выведение животных IX и XII серий из эксперимента проводили путем декапитации под комбинированным наркозом после завершения полного курса воздействия АФА и АФК.

Для обоснования возможности коррекции активности оксидоредуктаз АФК и АФА проведены эксперименты *in vitro* на образцах цельной изолированной консервированной крови (консерватор – фаглюцид (ОАО «Синтез», Россия), к 400 мл цельной крови добавляли 100 мл фаглюцида), полученной в Государственном бюджетном учреждении здравоохранения Нижегородской области «Нижегородский областной центр крови им. Н.Я. Климовой» (г. Нижний Новгород) от практически здоровых доноров (n=50) (табл. 5). Каждый образец разделяли на порции по 5 мл. Первая порция всегда являлась контрольной без воздействий. Каждую серию экспериментов воспроизводили в 10 биологических повторностях. В I серии экспериментов 2, 3 и 4 порции крови в течение 3 минут барботировали иNO объемом 100 см<sup>3</sup> в условиях термостатирования (37 С<sup>0</sup>). Для получения иNO использовали генератор NO (РФЯЦ-ВНИИЭФ, г. Саров). В создаваемом этим аппаратом воздушном потоке в отличие от потока, создаваемого генератором «Плазон», практически отсутствовала примесь озона и других АФК [149]. В качестве действующей концентрации NO использовали 20 ppm (2 порция), 50 ppm (3 порция) и 100 ppm (4 порция). Во II серии экспериментов 2 и 3 порции крови барботировали NO-содержащей холодной плазмой, генерируемой на минимальной (min) (2 порция) и максимальной (max) (3 порция) мощности аппарата «Плазон» объемом 100 см<sup>3</sup> в течение 3 минут. Концентрация NO на оси газового потока в выбранных условиях (фиксированное расстояние от

сопла аппарата 10 мм) составила 800 ppm. Мощности аппарата (min и max) отличались скоростью газового потока: 1 и 2 л/мин соответственно.

Таблица 5

Количество образцов консервированной крови в условиях воздействия активных форм кислорода в экспериментах *in vitro*

Серия эксперимента	Условия эксперимента	n
Донорская консервированная кровь	Является контролем для каждой серии эксперимента	10
	+физиологический раствор	
	+10% тетурам (50:1)	
Донорская консервированная кровь в условиях воздействия NO от генератора NO (РФЯЦ, Саров)	20ppm	10
	50 ppm	
	100 ppm	
Донорская консервированная кровь в условиях воздействия NO от аппарата «Плазон» (ЗАО «ЦВТМ при МГТУ им. Н.Э.Баумана», Москва)	NOmin (1 л/мин; 800 ppm)	10
	NOmax (2 л/мин; 800 ppm)	
Донорская консервированная кровь в условиях воздействия СК от аппарата «Airnergy»	50% мощности; 4 л/мин	10
	100% мощности; 4 л/мин	
Донорская консервированная кровь в условиях воздействия ДНКЖ	0,0033 мл (9нмоль/л) ДНКЖ (1:1515)	10
	0,05 мл (0,15 мкмоль/л) ДНКЖ (1:100)	
	0,1 мл (0,3 мкмоль/л) ДНКЖ (1:50)	
	0,1 мл ДНКЖ+10%тетурам (50:1)	
	0,2 мл (0,6 мкмоль/л) ДНКЖ (1:25)	
	1 мл (3 мкмоль/л) ДНКЖ (1:5)	
Всего		50

Холодную плазму, обогащенную NO, получали с помощью скальпель-коагулятор-стимулятора воздушно-плазменного СКВП/NO-01 «Плазон» (регистрационное удостоверение № ФСР 2007/00583; паспорт КРЛД 38642.001 ПС, МГТУ им. Н.Э. Баумана, Россия; регистрационное удостоверение на медицинскую технологию «Использование воздушной плазмы и экзогенного оксида азота для лечения раневых и воспалительных процессов» № ФСР 2007/197 от 18.09.2007). Терапевтическое действие аппарата «Плазон» реализуется за счет газовых потоков различной температуры (от 4000°С до температуры окружающей среды), но с неизменным содержанием в потоке оксида азота (II) [207]. Рассматривая эффекты NO-терапии, проводимой с помощью аппарата «Плазон» [113; 114; 215; 805], следует выделить 2 основных компонента: NO, оказывающий биологические эффекты [45; 48; 50; 77; 727], и холодная плазма, являющаяся его носителем в газовой фазе [511]. Холодная плазма способна приводить к уничтожению микроорганизмов [471; 549; 648], дополнительно

оптимизировать течение раневого процесса [643; 644]. Хирургическая составляющая аппарата позволяет применять его для коагуляции и стерилизации ран [61], рассечения биологических тканей плазменным потоком с температурой до 4000°C. Воздействие с помощью «Плазона» газовым потоком, содержащим NO, при более низкой температуре (до 40°C) позволяет стимулировать репаративные процессы при лечении ран, рубцовых изменений, острых и хронических воспалительных процессов, поражений мягких тканей. Аппарат работает со сменными манипуляторами 3-х типов, обеспечивающими коагуляцию, деструкцию (для хирургии) и лечебное воздействие (NO-терапия). Все манипуляторы аппарата «Плазон» – генераторы воздушной плазмы постоянного тока, выполненные по трехэлектродной схеме [855]. Цепные, разветвленные, обратимые плазмохимические реакции, приводящие к образованию NO, можно выразить формулой:  $N_2+O_2\leftrightarrow 2NO-180,9 \text{ кДж}$  [61].

В III серии экспериментов 2 и 3 порции крови барботировали газовой смесью с СК от аппарата «Airnergy» объемом 100 см<sup>3</sup> в течение 3 минут в условиях термостатирования (37 С<sup>0</sup>). Скорость потока – 4 л/мин., мощность потока СК – 50% (2 порция) и 100% (3 порция).

В IV серии экспериментов ко 2 порции крови добавляли физиологический раствор (1 мл), к 3, 4, 5, 6 и 7 – раствор ДНКЖ в количестве 0,0033 мл (9нмоль/л ДНКЖ) (1:1515), 0,05 мл (0,15 мкмоль/л ДНКЖ) (1:100), 0,1 мл (0,3 мкмоль/л ДНКЖ) (1:50), 0,2 мл (0,6 мкмоль/л ДНКЖ) (1:25) и 1 мл (3 мкмоль/л ДНКЖ) (1:5) соответственно. Во I, II, III и IV серии экспозиция после воздействия АФК или АФА составляла 5 минут. Во всех образцах крови после обработки АФК и АФА определяли активность ЛДГ, АлДГ, Гл-6-фДГ, СОД, каталазы, ГР, концентрацию МДА, глюкозы и лактата. Измерение активности каждой из оксидоредуктаз в каждой серии экспериментов проводили в 3-х биологических повторностях.

Для выяснения механизма действия экзогенного NO (на примере ДНКЖ) проведено три серии экспериментов. В I серии в условиях *in vitro* на

консервированной крови пациентов-доноров (табл. 5) изучали влияние тетурама на активность АлДГ [416]. К крови добавляли 10% раствор универсального ингибитора АлДГ тетурама (в соотношении 50:1, 0,1 мл тетурама на 5 мл крови), через 15 мин добавляли ДНКЖ (0,3 мкмоль/л) и повторно инкубировали 15 мин. В контроле вместо тетурама или ДНКЖ к крови добавляли физиологический раствор. Определяли активность АлДГ в гемолизате эритроцитов (1:40), взвеси эритроцитов в физиологическом растворе, гемолизате эритроцитов с тетурамом (после инкубации 15 мин), гемолизате эритроцитов с ДНКЖ (после инкубации 15 мин), гемолизате эритроцитов крови с тетурамом и ДНКЖ (после инкубации 30 мин). Раствор тетурама готовили: 300 мг тетурама растворяли в 3 мл физиологического раствора, взвесь центрифугировали при 1000 об/мин 5 минут, использовали надосадочную жидкость.

Во II серии в условиях *in vivo* на крови здоровых крыс (табл. 4) изучали влияние тетурама на активность АлДГ. В 1 группе интактным животным 10% р-р тетурама вводили ежедневно 10 дней внутрибрюшинно в дозе 0,2 г/кг [58]. 2-ой группе здоровых крыс ежедневно вводили 10% р-р тетурама внутрибрюшинно в дозе 0,2 г/кг, спустя 2 часа внутрибрюшинно вводили 10%-ый раствор ДНКЖ (1 мл; 0,3 ммоль/л) в течение 10 дней. В 3 группе здоровым животным ежедневно в течение 10 дней внутрибрюшинно вводили 10%-ый раствор ДНКЖ (1 мл; 0,3 ммоль/л). В 4 группе (контроль) интактным животным ежедневно 10 дней внутрибрюшинно вводили 1мл 0,9% раствора NaCl. Животные 1, 2, 3 и 4 групп выведены из эксперимента через 10 суток.

В III серии в условиях *in vivo* на крови крыс с КТТ (табл. 4) изучали влияние тетурама на активность АлДГ. В 1 группе 10% р-р тетурама вводили внутрибрюшинно в дозе 0,2 г/кг крысам, получившим КТТ, за 60 мин до ожога и затем ежедневно на протяжении 10 суток [58]. 2-ой группе крыс с КТТ ежедневно внутрибрюшинно вводили тетурам (0,2 г/кг), спустя 2 часа внутрибрюшинно вводили 10%-ый раствор ДНКЖ (1 мл; 0,3 мкмоль/л) в течение 10 дней. 3-я группа крыс с КТТ ежедневно получала лечение в виде

внутрибрюшинных инъекций 10% раствора ДНКЖ в физиологическом растворе (1:9 по объему) (1 мл; 0,3 мкмоль/л) в течение 10 суток. В контроле (4 группа) животным с КТТ ежедневно в течение 10 дней внутрибрюшинно вводили 1мл физиологического раствора [356]. Активность АлДГ определяли также в эритроцитах крови крыс с КТТ (5 группа). Животные 1, 2, 3, 4 и 5 групп выведены из эксперимента через 10 суток.

В клинической части работы использовали 55 образцов крови больных старше 18 лет с термическими ожогами II-III степени площадью более 20% поверхности тела, в ранний период ОБ (на 1-14 сутки после ТТ), лечившихся в ожоговом центре ФГБОУ ВО “ПИМУ” Минздрава России и образцы крови 52 условно здоровых доноров (табл. 6).

Таблица 6

## Объем клинических исследований

Группа исследования	Задачи и условия эксперимента	Объем группы
Здоровые доноры		52
Больные с ожогами на площади от 20 до 65% поверхности тела II-III А-Б степени	Ингаляции СК	55
Больные с ожогами на площади от 20 до 65% поверхности тела II-III А-Б степени	Определение активности АлДГ спустя 6-12 месяцев после ТТ	36

Пациенты рандомизированы в 2 группы (контрольная – больные с ТТ и опытная – больные с ТТ и ингаляциями СК). Рандомизацию проводили методом генерации случайных чисел (Excel) кратностью 4. Интерпретация случайных чисел позволяет в максимальной степени исключить субъективный подход в применении испытуемых доз. Кровь (5мл) больных брали из локтевой вены и стабилизировали ее 3,8% раствором цитрата натрия (Вектон, Россия) [352] в соотношении 9:1 сразу после поступления с соблюдением всех необходимых правил в условиях медицинского стационара.

## 2.2. Методы исследования

### 2.2.1. Приготовление гомогенатов органов, выделение субклеточных фракций

Митохондриальную и цитоплазматическую фракции клеток органов экспериментальных животных получали методом дифференциального

центрифугирования [92; 109; 115]. После декапитации крыс под наркозом (Золетил + Ксила) вскрывали брюшную полость, печень, почки, сердце, легкие быстро извлекали, отмывали от крови, многократно перфузируя их охлажденным физиологическим раствором. Промытый орган помещали в стоящую на льду чашку Петри и измельчали ножницами. В стеклянном гомогенизаторе Поттера с тефлоновым пестиком готовили 10%-ый гомогенат на основе среды выделения, содержащей 250 мМ сахарозы (Химреактив, Россия), 250 мкМ ЭДТА, 10 мМ Tris (Reanal, Hungary), pH=7,4, предварительно охлажденной до 4С°. Ткань гомогенизировали 30-40 сек. Для удаления не полностью разрушенных клеток и ядер гомогенат центрифугировали 15 мин при 1000g ( $t = 0 - +2С^\circ$ ). Рыхлый осадок отбрасывали [356]. Супернатант переливали в чистую охлажденную пробирку и центрифугировали 20 минут при 15000g. Осадок ресуспендировали в среде выделения и центрифугировали 10 минут при 15000g. Полученный осадок митохондрий суспендировали в этой же среде (~100 мкл). Митохондрии получали на центрифуге с охлаждением MULTIFUGE 1 S-R (Heraeus, Германия) (4С°) и использовали для исследований в течение 2 часов после выделения [109; 384].

### **2.2.2. Электронно-микроскопическое исследование митохондрий**

Для идентификации митохондрий проведено электронно-микроскопическое исследование. Материал предварительно фиксировали по стандартной методике в 2,5% глutarовом альдегиде на фосфатном буфере в течение 2 ч при температуре 4°С, затем дофиксировали 1% раствором четырехоксида осмия в течение 1,5 ч. После этапов промывки буферным раствором материал обезвоживали путем проводки по спиртам восходящей концентрации и пропитки. Материал заключали в эпоксидную смолу эпон-812 (Sigma-Aldrich, USA) и аралдит [249]. Приготовление ультратонких срезов 100 нм из полимеризованных эпон-аралдитных блоков выполняли на ультрамикротоме Power Tome PC (RMC Products, США). Для усиления контраста использовали двойное окрашивание ультратонких срезов в водном

растворе уранилацетата и растворе цитрата свинца по E.S. Reynolds [700; 783]. Электронно-микроскопическое исследование митохондрий выполнено на просвечивающем (трансмиссионном) электронном микроскопе высокого разрешения HT7700 (Hitachi, Hitachi High-Technologies Corporation, Япония).

Провели оценку качества полученной митохондриальной фракции. Приготовленные образцы пригодны для высококачественных электронно-микроскопических фотографий и информативны (рис. 3). Известно о гетерогенности митохондрий по морфологии, размерам, форме, плотности, свойствам, участию в апоптозе клетки и старении [438; 647]. В животной клетке одновременно присутствуют «молодые» - диаметром менее 1 мкм и «зрелые» - диаметром более 1 мкм митохондрии. Митохондрии разного размера обладают сходством по интенсивности дыхания, составу дегидрогеназ, фосфорилированию АДФ, составу белков, но отличаются по НАДН-дегидрогеназной и фосфорилирующей активности, что отражает процесс созревания митохондрий [352; 438]. Различные формы митохондрий могут быть стадиями их развития, а фенотипическое разнообразие митохондрий обусловлено их генетической гетерогенностью [352; 647].

Выявлен полиморфизм митохондриальной фракции: в исследованных образцах присутствовали крупные и мелкие митохондрии с сохранными мембранами (рис. 4А). Часть митохондрий имела плотный матрикс и четкие кристы. Кроме митохондрий с сохранной структурой встречались набухшие митохондрии и с нарушениями внутримитохондриальной архитектоники. В отдельных митохондриях отмечено изменение электронной плотности митохондриального матрикса, его очаговый лизис, просветление, а также укорочение, фрагментирование и редукция крист (рис. 4Б). В образцах представлены электронно-плотные розетки гранул гликогена, включения цистерн эндоплазматического ретикулула и множественные рибосомы, в том числе в виде скоплений на мембранах митохондрий (рис. 4А). Таким образом, качество материала было удовлетворительным и достаточным для оценки метаболических изменений органелл.

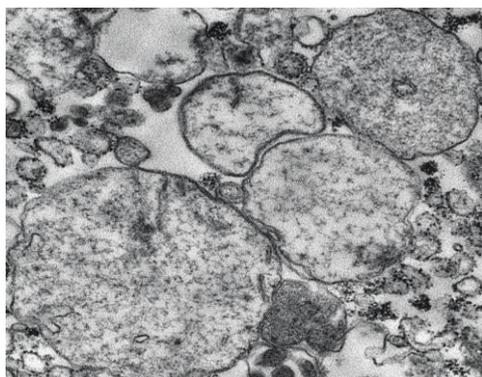


Рис.3. Электронно-микроскопическое изображение фракции митохондрий печени крысы, трансмиссионный электронный микроскоп Hitachi HT7700. Увеличение  $\times 38000$ .

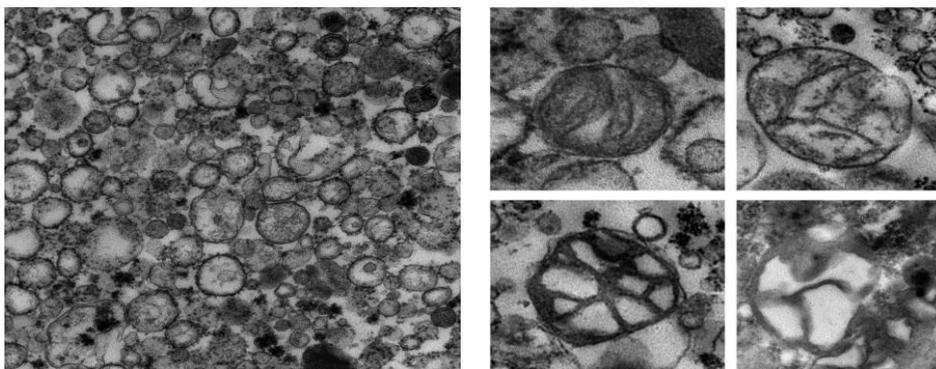


Рис.4. Электронно-микроскопическое изображение фракции митохондрий печени крысы, трансмиссионный электронный микроскоп Hitachi HT7700. А – увеличение  $\times 10000$ ; Б – гетерогенность ультраструктуры митохондрий фракции из печени крысы, увеличение  $\times 22000$ .

### 2.2.3. Определение активности альдегиддегидрогеназы

Активность АлДГ определяли спектрофотометрически по регистрации начальной скорости образования НАДН при дегидрогеназном окислении ацетальдегида в качестве субстрата [155; 352; 360; 361]. **Ход определения активности.** В спектрофотометрическую кювету помещали 280 мкл 0,1М глицин-щелочного буфера (Reanal, Hungaru) ( $\text{pH}=10$ ); 5 мкл 18мМ ацетальдегида (MERCK-Schuchardt, Германия); 10 мкл 0,8мМ НАД (AppliChem, Германия); 5 мкл раствора, содержащего фермент (субклеточные фракции или гемолизат эритроцитов (1:40)). Перемешивали и измеряли рост оптической плотности при 340нм через 15 сек в течение 1 минуты [352; 360]. Активность фермента (А) вычисляли по формуле 1 [361]:

$$A = \frac{\Delta E_{340} \times V \times 10^9}{e \times t \times b \times \nu \times l}, \text{ где}$$

$\Delta E_{340}$  – величина оптической плотности измеренной при 340 нм и рассчитанной следующим образом:  $\Delta E_{340} = (\Delta E_1 - \Delta E_2 / 2) + \Delta E_2$ ;  $\Delta E_1 = E_{30} - E_0$ ;  $\Delta E_2 = E_{60} - E_0$ ;  
 $V$  – общий объем реакционной смеси, мл;  $10^9$  – коэффициент пересчета моль в нмоль;  
 $e$  – молярный коэффициент экстинкции НАДН –  $6,22 \times 10^6$  моль<sup>-1</sup> см<sup>-1</sup>;  
 $t$  – время, в течение которого измеряют активность фермента, 1 мин;  
 $v$  – объем пробы (5 мкл);  $l$  – толщина кюветы (0,2 см);  
 $b$  – количество белка в пробе в мг (или ткани в г).

Активность АДГ выражали в нмоль НАДН за 1 мин на 1 мг белка или мкмоль НАДН за 1 мин на 1 г ткани [352].

#### 2.2.4. Определение активности алкогольдегидрогеназы

*А) Определение активности фермента с использованием в качестве субстрата этилового спирта (прямая реакция) [400; 633].* При окислении этилового спирта образуется НАДН, количество которого определяется спектрофотометрически. **Ход определения активности.** В кювету помещали 270 мкл 100 мМ глицинового буфера (рН 10,0); 10 мкл раствора, содержащего фермент (субклеточные фракции или гемолизат эритроцитов в дистиллированной воде (1:40)) [399]; 10 мкл 70%-ного этилового спирта (ООО «Гиппократ», Самара); 10 мкл 20 мМ НАД. Перемешивали и измеряли рост оптической плотности при 340 нм через 15 сек в течение 1 минуты. Расчёт активности фермента проводили по формуле 1. Активность АДГ выражали в нмоль НАДН за 1 мин на 1 мг белка или мкмоль НАДН за 1 мин на 1 г ткани [352].

*Б) Определение активности фермента с использованием в качестве субстрата ацетальдегида (обратная реакция - АДГобр) [400; 636].* Активность АДГ оценивали по скорости окисления НАДН, которое регистрируется спектрофотометрически [352; 400]. **Ход определения активности.** В кювету спектрофотометра помещали 270 мкл 100 мМ фосфатного буфера (Химреактив, Нижний Новгород) (рН 7,4); 10 мкл раствора, содержащего фермент (субклеточные фракции или гемолизат эритроцитов в дистиллированной воде (1:40)); 10 мкл 23 мМ ацетальдегида и 10 мкл 5 мМ НАДН (AppliChem, Германия). Перемешивали и измеряли уменьшение оптической плотности при 340 нм через 15 сек в течение 1 минуты. Расчёт активности АДГ проводили по формуле 1, активность

выражали в нмоль НАДН за 1 мин на 1 мг белка или мкмоль НАДН за 1 мин на 1 г ткани [352;400].

### 2.2.5. Определение активности лактатдегидрогеназы

*А) Определение активности фермента с использованием в качестве субстрата молочной кислоты (прямая реакция – ЛДГпр) по методу Г.А. Кочетова [182; 400].* При действии ЛДГ на молочную кислоту происходит окисление, что сопровождается восстановлением НАД. **Ход определения активности.** В спектрофотометрическую кювету помещали 270 мкл 100мМ глицинового буфера (рН 9,6); 10 мкл раствора, содержащего фермент (субклеточные фракции или гемолизат эритроцитов в дистиллированной воде (1:40)) [352; 399]; 10 мкл 50мМ лактата натрия (Вектон, Россия); 10 мкл 20 мМ НАД. Перемешивали и измеряли рост оптической плотности при 340 нм через 15 сек в течение 1 минуты. Расчет активности фермента проводили по формуле 1. Активность ЛДГ выражали в нмоль НАДН за 1 мин на 1 мг белка или мкмоль НАДН за 1 мин на 1 г ткани [352].

*Б) Определение активности фермента с использованием в качестве субстрата пировиноградной кислоты (обратная реакция – ЛДГобр) по методу Г.А. Кочетова [182].* Активность ЛДГ оценивали по скорости окисления НАДН, которое регистрируется спектрофотометрически [352]. **Ход определения активности.** В кювету помещали 270 мкл 100мМ фосфатного буфера (рН 7,4); 10 мкл раствора с ферментом (субклеточные фракции или гемолизат эритроцитов в дистиллированной воде (1:40)) [399]; 10 мкл 23 мМ пирувата натрия (Sigma-Aldrich, USA) и 10 мкл 5 мМ НАДН. Перемешивали и измеряли уменьшение оптической плотности при 340 нм через 15 сек в течение 1 минуты. Расчет активности фермента проводили по формуле 1. Активность ЛДГ выражали в нмоль НАДН за 1 мин на 1 мг белка или мкмоль НАДН за 1 мин на 1 г ткани. Для выявления нарушений энергетического метаболизма в тканях рассчитывали коэффициент баланса энергетических реакций (КБЭР):  $КБЭР = (ЛДГпр/ЛДГобр) / (ЛДГобр/ЛДГпр) \times 100$  [362; 367; 384].

### 2.2.6. Определение активности сукцинатдегидрогеназы

Активность СДГ определяли методом, основанном на использовании искусственных акцепторов электронов [399; 525].

Сукцинат + ФМС → Фумарат + ФМС-Н<sub>2</sub>; ФМС-Н<sub>2</sub> + ДХФИФ → ФМС + ДХФИФ-Н<sub>2</sub> [399].

**Ход определения активности.** Среда определения представляла собой 0,1 моль/л натрий-фосфатного буфера (рН=7,4), содержащего 0,08 моль/л дихлорфенолинфенола (ДХФИФ) (ООО «Крезол», Уфа), 1 ммоль/л феназинметасульфата (ФМС) (Вектон, Россия), 2 ммоль/л азиды натрия (Вектон, Россия) и 20 ммоль/л сукцината натрия (Реахим, Россия). Активность фермента оценивали спектрофотометрически на спектрофотометре Power Wave XS по уменьшению оптической плотности при длине волны 600 нм в течение 1 мин., обусловленному обесцвечиванием ДХФИФ в ходе его восстановления. Реакционная смесь: к 10 мл натрий-фосфатного буфера добавляли 4,59 мг ФМС, 0,35 мг ДХФИФ, 1,95 мг азиды натрия, 81 мг сукцината натрия. В опытную пробу добавляли 200 мкл среды определения и 100 мкл митохондрий, в контроль – 100 мкл 0,1% раствора тритона X-100 [399].

Активность СДГ (А) высчитывали по формуле 2 [399]:

$$A = \frac{V \times \Delta D}{\varepsilon \times l \times v \times t \times b},$$

где V – общий объем реакционной смеси (300 мкл);

$\varepsilon$  – молярный коэффициент экстинкции ДХФИФ –  $2,1 \cdot 10^4$  моль<sup>-1</sup> × см<sup>-1</sup>;

v – объем пробы (100 мкл); t – время (1 мин.);

l – толщина кюветы (0,2 см); b – содержание белка в пробе в мг;

$\Delta D$  – разность между оптической плотностью контрольной и опытной проб.

Активность СДГ выражали в мкмоль/л за 1 мин на 1 мг белка или ммоль НАДН за 1 мин на 1 г ткани [399].

### 2.2.7. Определение активности цитохром c оксидазы

Каталитическую активность цитохром c оксидазы регистрировали по скорости окисления цитохрома c, по методу I.P. Schwitzguebel, P.A. Siegenthaler [399; 801]. Для определения начальной оптической плотности в спектрофотометрическую кювету помещали 200 мкл 0,1% раствора тритона X-100 (FERAK, Berlin) и 100 мкл 0,1 ммоль/л раствора цитохрома c (SERVA,

Heidelberg), на спектрофотометре Power Wave XS измеряли начальную оптическую плотность ( $D_1$ ) при  $\lambda=550$  нм. На втором этапе измерения в кювету добавляли 200 мкл 0,1 моль/л натрий-фосфатного буфера (рН=7,4) и 100 мкл митохондрий, регистрируя конечную оптическую плотность ( $D_2$ ). Каталитическую активность цитохром *c* оксидазы (А) выражали в ммоль/л×мин×мг согласно формуле 2, в которой  $V$  – 600 мкл;  $\epsilon$  – молярный коэффициент экстинкции цитохрома *c* при 550 нм, равный – 21,84 моль<sup>-1</sup>×см<sup>-1</sup>;  $v$  – 100 мкл;  $t$  – 1 мин [399].

### 2.2.8. Определение активности супероксиддисмутазы

Активность СОД определяли по ингибированию образования продукта аутоокисления адреналина [347-350]. **Ход определения активности.** В спектрофотометрическую кювету помещали 200 мкл 0,2М бикарбонатного буфера (Химреактив, Нижний Новгород) (рН 10,65); 10 мкл 0,1% раствора адреналина (ФГУП «Московский эндокринный завод», Россия). После добавления 1 мкл исследуемого раствора с ферментом (субклеточные фракции или гемолизат эритроцитов (1:10)), содержимое кюветы быстро перемешивали и измеряли величину оптической плотности при 347 нм в течение 3 мин [175]. В контрольную пробу раствор фермента не добавляли.

Общую активность фермента (Е) вычисляли по формуле 3:

$$E (\% \text{ингибирования}) = [1 - (\Delta D_{\text{Допыт}} / \Delta D_{\text{Контроль}})] \times 100\%,$$

где  $\Delta D_{\text{Допыт}}$  и  $\Delta D_{\text{Контроль}}$  – скорости реакции аутоокисления адреналина, соответственно, в присутствии и отсутствии раствора, содержащего фермент. Активность СОД выражали в условных единицах. За 1 условную единицу принимали 1% ингибирования [175; 347-350].

Удельная активность фермента (Е/б):

$$E/b = \frac{\% \text{ ингибирования}}{b}$$

где  $b$  – количество белка, мг.

Удельную активность фермента выражали в условных единицах (% инг)/мин×мг белка или в % инг за 1 мин на 1 г ткани.

### 2.2.9. Определение активности каталазы

Для определения активности каталазы использовали спектрофотометрический метод, основанный на определении скорости разложения  $H_2O_2$  каталазой исследуемого образца с образованием воды и  $O_2$  [343; 366]. **Ход определения активности.** В спектрофотометрическую кювету помещали 295 мкл 50 мМ К,Na-фосфатного буфера (ДиаМ, Россия) (рН 7,0); 3 мкл раствора, содержащего фермент (субклеточные фракции или гемолизат эритроцитов в дистиллированной воде (1:100)). Реакцию запускали внесением в реакционную смесь 2 мкл 0,6 М  $H_2O_2$  [400]. Контрольная кювета содержала те же реактивы, кроме  $H_2O_2$ . Активность каталазы определяли по изменению оптической плотности при  $\lambda=240$  нм через 10 секунд в течение 1 минуты. Расчет активности каталазы ( $мкмольH_2O_2/мин \times мг$ ) проводили по формуле 4:  $A = (K \cdot X)/C$ , где:

A – активность фермента;

X – конечное разведение вытяжки в кювете (объём реакционной смеси, разделенный на количество вносимого экстракта); C – содержание белка в пробе, мг;

$K = (2,3/T) \cdot [\log_{10}(A1/A2)]$ , где

T – время реакции, мин; A1 – оптическая плотность в начальный момент времени;

A2 – оптическая плотность в конечный момент времени [400].

### 2.2.10. Определение активности глутатионредуктазы

ГР катализирует восстановление окисленного глутатиона, используя в качестве восстановительного эквивалента НАДФН. Метод основан на изменении абсорбции раствора при образовании окисленной формы  $НАДФ^+$  [343]. **Ход определения активности.** В спектрофотометрическую кювету помещали 270 мкл буфера измерения, рН 8,0 (6,05 г Трис·НСl (трис(гидроксиметил)аминометан) (ДиаМ, Россия) и 146 мг Na-ЭДТА (Вектон, Россия) растворяли и доводили до объёма 500 мл измерения), 10 мкл раствора, содержащего фермент (субклеточные фракции или гемолизат эритроцитов в дистиллированной воде (1:40)), 10 мкл 0,4% раствора НАДФН (AppliChem, Германия). Контрольная кювета содержала 270 мкл буфера измерения, 10 мкл раствора, содержащего фермент, 10 мкл 0,4% раствора НАДФН. Перед измерением в экспериментальную кювету добавляли 10 мкл

3% раствора GSSG (15,3 мг GSSG растворяли в 0,5 мл дистиллированной воды) (Reanal, Hungary), перемешивали и измеряли изменение оптической плотности при 340 нм через 15 сек в течение 1 минуты [343]. Расчёт активности ГР проводили по формуле 1 и выражали в нмоль НАДФН за 1 мин на 1 мг белка или мкмоль НАДФН за 1 мин на 1 г ткани.

#### **2.2.11. Определение активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы**

Активность Гл-6-фДГ определяли по методу Г.А. Кочетова [182;399], применяя спектрофотометрический анализ. Принцип метода основан на определении количества НАДФН, образующегося при окислении глюкозо-6-фосфата в фосфоглюколактон. По мере образования НАДФН светопоглощение пробы при  $\lambda=340$  нм возрастает [399]. **Ход определения активности.** В спектрофотометрическую кювету (Power Wave XS) помещали 285 мкл 0,1 М раствор натрий-фосфатного буфера (рН=7,4), 10 мкл 0,6 мМ раствора НАДФ (AppliChem, Германия), 5 мкл 15 мМ раствора глюкозо-6-фосфата (Реахим, Россия), 2 мкл исследуемого образца (субклеточные фракции или гемолизат эритроцитов в дистиллированной воде (1:40)). Перемешивали содержимое кюветы и анализировали против дистиллированной воды увеличение оптической плотности при длине волны 340 нм через 15 сек в течение 1 мин [399]. Расчет активности Гл-6-фДГ проводили по формуле 1. Активность Гл-6-фДГ выражали в нмоль НАДФН за 1 мин на 1 мг белка или мкмоль НАДФН за 1 мин на 1 г ткани.

#### **2.2.12. Определение кинетических характеристик фермента**

Для определения кинетических констант ферментативных реакций использовали полную кривую накопления продуктов реакции (зависимость скорости накопления продуктов от времени от начала реакции до полного расходования субстрата) (рис.5) [132; 400]. Учитывая, что с течением времени кинетическая характеристика фермента в составе надмолекулярной структуры может изменяться, для расчёта был выбран диапазон времени, равный 60 сек., при котором имеет место пропорциональное изменение скорости реакции от времени, а концентрации исходных субстратов остаются

насыщающими. Из первичных экспериментальных данных полной кинетической кривой зависимости ( $V$  от  $t$ ), используя математический метод, рассчитывали кинетические параметры ферментативной реакции ( $Kt$ ,  $V_{max}$ ,  $V_{max}/Kt$ ) [127; 400; 641], где:  $Kt$  – время полупревращения субстрата для ферментативной реакции (мин);  $V_{max}$  – максимальная скорость накопления продукта реакции при полном расходе субстрата (мкмоль/мин);  $V_{max}/Kt$  – коэффициент каталитической эффективности ферментативной реакции (мкмоль/мин<sup>2</sup>) [132; 352].

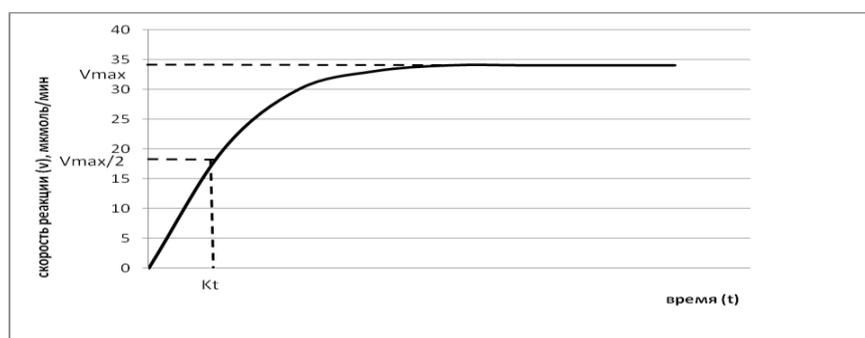


Рис. 5. Зависимость скорости накопления продуктов от времени с начала реакции до полного расхода субстрата [132; 352; 400]

Расчет кинетических показателей оксидоредуктаз проводили, используя первичные экспериментальные данные при определении активности ферментов [352]. Характер ингибирования и активации ферментов определяли по В.И. Крупянко [184; 185; 400] (табл. 7).

Таблица 7

#### Характеристика типов ингибирования и активации ферментов [184]

Тип реакции	Соотношение между $Kt$ и $V$ параметрами	Новое название	Старое название
Ингибирование			
Иi	$K^1t > K^0t; V^1 < V^0$	Двухпараметрически согласованное	Смешанное
Иii	$K^1t < K^0t; V^1 < V^0$	Двухпараметрически рассогласованное	Бесконкурентное
Иiii	$K^1t = K^0t; V^1 < V^0$	Каталитическое	Неконкурентное
ИVii	$K^1t > K^0t; V^1 = V^0$	Ассоциативное	Конкурентное
ИVi	$K^1t > K^0t; V^1 > V^0$	Псевдоингибирование	
Активация			
Va	$K^1t < K^0t; V^1 < V^0$	Псевдоактивация	
IVa	$K^1t < K^0t; V^1 = V^0$	Ассоциативная	
IIIa	$K^1t = K^0t; V^1 > V^0$	Каталитическая	
IIa	$K^1t > K^0t; V^1 > V^0$	Двухпараметрическая рассогласованная	
Ia	$K^1t < K^0t; V^1 > V^0$	Двухпараметрическая согласованная	

### 2.2.13. Спектрофотометрический метод количественного определения белков

По методу V.F. Jr. Kalb, R.W. Bernlohr [627] проводили измерение оптической плотности  $D$  исследуемого раствора при двух длинах волн 230 нм ( $D_1$ ) и 260 нм ( $D_2$ ), что позволяет оценивать вклад нуклеиновых кислот и снижает зависимость величины светопоглощения от аминокислотного состава индивидуальных белков. Концентрацию белка в мг/мл рассчитывали по формуле:  $C = 183 \times D_1 - 75,8 \times D_2$ . Чувствительность метода составляет  $\sim 0,05$  мг/мл. Для измерений использовали спектрофотометр Power Wave XS.

### 2.2.14. Оценка концентрации ТБК-реактивных продуктов

В липидных системах продукты ПОЛ образуют с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) окрашенный комплекс, экстрагируемый бутанолом. Так как большая часть МДА, реагирующего с ТБК, образуется из промежуточных продуктов ПОЛ, под МДА подразумевали ТБК-взаимодействующие продукты [400]. Содержание МДА оценивали по методу Mihara M., Uchiyama M., Fukuzawa K. [698]. Реактивы: 2-ТБК (Реахим, Россия); ортофосфорная кислота (Химреактив, Россия), *n*-Бутанол (АО «ЭКОС-1», Россия). **Ход работы:** 63 мкл исследуемого образца (субклеточные фракции, плазма или гемолизат эритроцитов в дистиллированной воде (1:10)) смешивали с 750 мкл 1,4 % ортофосфорной кислоты и 250 мкл 0,5 % ТБК. В холостой пробе вместо пробы добавляли 63 мкл дистиллированной воды. Смесь инкубировали в кипящей бане 45 мин, после чего охлаждали и добавляли 1000 мкл *n*-бутанола [400]. Пробирки встряхивали и центрифугировали при 1800 g в течение 10 мин. Верхнюю фазу фотометрировали (Power Wave XS) против контрольной пробы при 535 и 570 нм. Расчет МДА производили по формуле:

$$C = \frac{D_{535} - D_{570}}{0,156} \times 16$$

где:  $C$  – содержание ТБК-активных продуктов в опытной пробе мкмоль/л;  
 $D_{535}$  – оптическая плотность опытной пробы при 535 нм;  
 $D_{570}$  – оптическая плотность опытной пробы при 570 нм;  
 0,156 – коэффициент молярной экстинкции комплекса МДА-ТБК в л/мкмоль/см;

16 – коэффициент разведения [400].

### **2.2.15. Метод биохемилюминесцентного анализа**

Активность процесса СРО изучали с помощью метода индуцированной биохемилюминесценции [190; 290; 365] на биохемилюминометре БХЛ-06 (Н.Новгород). Метод биохемилюминесценции, индуцированной  $\text{H}_2\text{O}_2$  и  $\text{Fe}^{2+}$ , основан на каталитическом разложении  $\text{H}_2\text{O}_2$  ионами металла с переходной валентностью по реакции Фентона [53]:  $\text{HOON} + \text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{HO}^\bullet + \text{OH}^- + \text{Fe}^{3+}$ . Образующиеся при этом свободные радикалы вступают в процесс инициации СРО в исследуемом биологическом субстрате. Рекомбинация радикалов  $\text{RO}_2^\bullet$  приводит к образованию неустойчивого тетроксидов, распадающегося с выделением кванта света [53; 55]. На интенсивность биохемилюминесценции влияет полный комплекс соединений, обладающих как антиоксидантным, так и прооксидантным действием, таким образом, метод дает возможность оценить уровень компенсаторных возможностей организма.

**Ход анализа:** в кювету вносили 100 мкл пробы (субклеточные фракции, плазма или взвесь эритроцитов в 0,9% растворе  $\text{NaCl}$  (1:4)), 400 мкл фосфатного буфера ( $\text{pH}=7,5$ ), 400 мкл 0,05 мМ раствора сульфата железа (Вектон, Россия) и 200 мкл 2% раствора  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Измеряли интенсивность свечения за 30 сек. На экране компьютера появлялась информационная карта, на которой высвечивались значения, характеризующие интенсивность СРО и ОАА. Оценивали следующие параметры хемилюминограммы:

$\text{tg } 2\alpha$  – показатель кинетической кривой, характеризующий скорость спада процессов СРО в плазме и свидетельствующий об ОАА;

$S$  – светосумма хемилюминесценции за 30 с. (количество импульсов за 30 с.), отражающая способность биологического объекта к СРО [365].

### **2.2.16. Определение концентрации глюкозы и лактата**

Концентрацию глюкозы и лактата в плазме и гемолизате эритроцитов в дистиллированной воде (1:10) определяли на автоматическом анализаторе глюкозы и лактата Super GL Ambulance (Dr. Muller, Германия).

### **2.2.17. Определение концентрации метаболитов оксида азота**

В работе использовали спектрофотометрический метод количественного определения метаболитов  $\text{NO}$  –  $\text{NO}_2^-$  и  $\text{NO}_3^-$  в биологических средах, основанный на реакции Грисса [175; 247; 248]. Реактив Грисса детектирует только нитрит-ион  $\text{NO}_2^-$ . Суть метода определения  $\text{NO}_2^-$  ионов заключается в способности первичных ароматических аминов в присутствии азотистой кислоты образовывать окрашенные диазосоединения, имеющие максимум поглощения при  $\lambda=540\text{nm}$  [175; 492; 493] (рис. 6). Принцип метода определения суммарных нитратов и нитритов ( $\text{NO}_x$ ) заключается в одновременном восстановлении нитратов в нитриты в присутствии  $\text{VCl}_3$  при  $t=37^\circ\text{C}$  и реакции диазотирования сульфаниламида образовавшимся нитритом с последующим развитием розовой окраски, интенсивность которой определяется спектрофотометрически ( $\lambda=540\text{ nm}$ ) (рис. 7) [247; 248]. Для восстановления нитрата в нитриты кроме ионов ванадия или кадмия можно использовать ферментативный метод с применением бактериальной нитрат редуктазы из *Aspergillus nidulans* [247; 248].

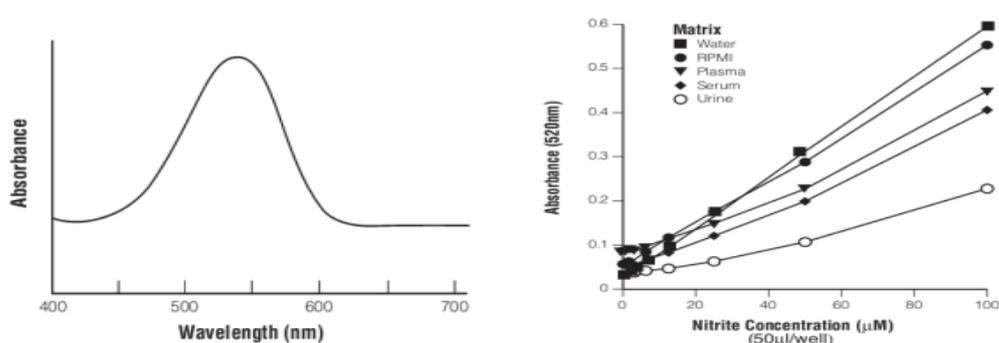


Рис. 6. Электронные спектры взаимодействия реактива Грисса с  $\text{NO}$ -метаболитами [688].

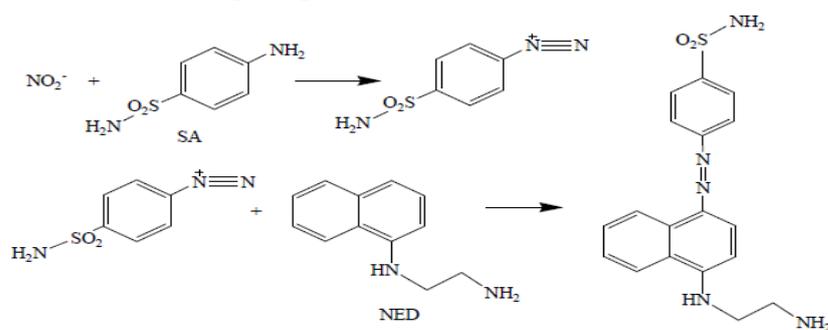


Рис. 7. Реакция взаимодействия (диазотирования) нитрит-иона с реактивом Грисса [617].

**Ход определения концентрации нитрит и нитрат ионов.** Плазму крови депротеинизировали, смешивая плазму с 96° этиловым спиртом в соотношении 1:2, затем центрифугировали при 2500 об/мин в течение 20 мин. Гомогенаты органов депротеинизировали этиловым спиртом, смешивая гомогенат с 96° этиловым спиртом в соотношении 1:4, затем также центрифугировали при 2500 об/мин 20 мин. Реактив Грисса состоял из равных частей раствора I (0,05% р-р N-нафтилэтилендиамина (SIGMA-ALDRICH, USA) в воде) и раствора II (1% р-р сульфаниламида (ДиаМ, Россия) в 30% уксусной кислоте (Химреактив, Россия)). Оба раствора хранили в темноте при  $t=4^{\circ}\text{C}$  в течение нескольких месяцев. Раствор хлористого ванадия (SIGMA-ALDRICH, USA) готовили, растворяя 400 мг  $\text{VCl}_3$  в 50 мл 1N HCl (Химреактив, Россия). Всегда использовали свежеприготовленный раствор.  $\text{NO}_x$  определяли на спектрофотометре Power Wave XS, используя стандартную 96-луночную плашку с плоским дном (Costar для иммуноферментного анализа) (принцип действия – вертикальная фотометрия).

К 100 мкл супернатанта, полученного после депротеинизации плазмы, или субклеточной фракции добавляли 100 мкл раствора хлорида ванадия и 100 мкл реактива Грисса. Смесь инкубировали в течение 30 мин при  $37^{\circ}\text{C}$ . Оптическую плотность раствора измеряли при 540 нм. Таким образом, определяли содержание  $\text{NO}_x$ . Для измерения концентрации нитрита сыворотку инкубировали с реактивом Грисса без добавления  $\text{VCl}_3$ . Концентрацию нитратов вычисляли:  $[\text{Нитрат}] = [\text{Нитрат} + \text{Нитрит}] - [\text{Нитрит}]$ . Количество  $\text{NO}_2^-$  (рис. 8) и  $\text{NO}_x$  (рис. 9) определяли в мкМ по калибровочной кривой, построенной с 1M раствором  $\text{NaNO}_2$  (Вектон, Россия) в воде, разбавив его в 1000 раз и готовя серию разведений для построения кривой, линейность которой была в диапазоне концентраций  $\text{NO}_2^-$  от 5 до 320 мкМ.

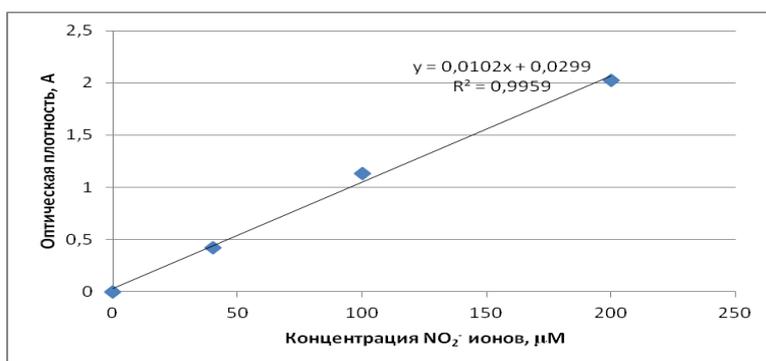


Рис. 8. Калибровочная кривая, полученная для нитрит-ионов

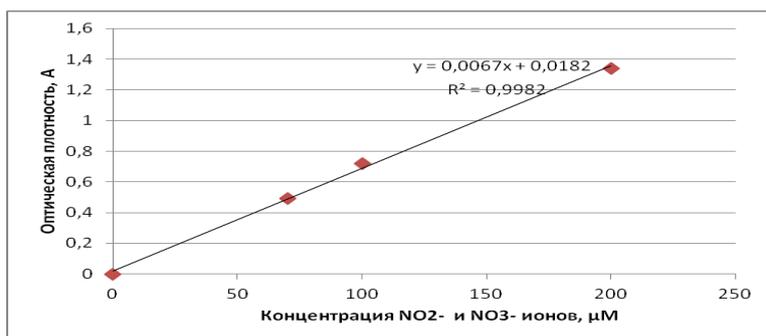


Рис. 9. Калибровочная кривая, полученная для суммарных метаболитов NO<sub>2</sub><sup>-</sup> и NO<sub>3</sub><sup>-</sup> ионов

### 2.2.18. Морфологическое исследование легких

Кусочки легочной ткани фиксировали в 10% растворе формалина. После фиксации материал промывали в проточной водопроводной воде и обезвоживали путем проведения через спирты возрастающей крепости: 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 96%, 100% по 40 минут в каждом. При заливке кусочки предварительно пропитывали в трех порциях ксилола (рбхРОСБЫТХИМ, Россия) по 30 минут, затем в смеси из равных частей ксилола и парафина 30 минут и в трех порциях парафина по 2 часа в каждой. После пропитывания объекты заливали расплавленным парафином (ХимПЭК, Россия). Серийные срезы толщиной 4-6 мкм с парафиновых блоков изготавливали на микротоме санном электронном MSE (ООО Инмедпром, Россия). Срезы окрашивали гематоксилином (HiMedia Laboratories, Индия) и эозином Y (Panreac-AppliChem, An ITW Company, Barcelona) [57; 172]. Микроскопирование и фотодокументирование проводили с использованием морфометрического комплекса Leica DM 1000 (Leica Microsystems, Германия) и цифровой камеры Leica DFC 290 HD (Leica Microsystems, Германия).

### 2.3. Статистическая обработка результатов

Статистический анализ результатов проводили, используя пакет программ Microsoft Excel, Biostat 4.3, Statistica 6.0 (Statsoft Inc., USA). Для проверки гипотезы о соответствии распределения полученных вариантов нормальному распределению [53] применяли критерий Шапиро-Уилка. Результаты обрабатывали, используя показатели описательной статистики: выборочного среднего, выборочного стандартного отклонения, стандартной ошибки среднего [53]. В таблицах и на рисунках представлены данные как среднее значение  $\pm$  среднее квадратичное отклонение ( $M \pm \sigma$ ). Для оценки статистической значимости различий применяли t-критерий Стьюдента. При расчете t-критерия Стьюдента применяли поправку Бонферрони, позволяющую устранить ошибку первого рода, возникающую при сравнении более чем двух выборок данным методом (при проведении множественных сравнений) [68; 352]. Различия между сравниваемыми группами считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Для анализа сопряженных биохимических показателей рассчитывали коэффициент корреляции (r) Пирсона (при нормальном распределении данных) [157].

### Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

#### 3.1. Особенности регуляции оксидоредуктаз крови и тканей при экспериментальной комбинированной термической травме

##### 3.1.1. Особенности свободнорадикального окисления крови и органов крыс при комбинированной термической травме

Показано, что КТТ вызвала повышение СРО в плазме и эритроцитах. Показатель S увеличился в плазме на 1 сутки после КТТ на 13,15 % ( $p=0,037$ ), 7 сутки – на 6,02% ( $p=0,039$ ), 10 сутки – на 6,33% ( $p=0,028$ ) по сравнению со здоровыми животными, в эритроцитах на 1 сутки после КТТ показатель S возрос на 69,15% ( $p=0,012$ ), 7 сутки – на 62,67% ( $p=0,017$ ), 10 сутки – на 34,01% ( $p=0,024$ ) (табл. 8). Аналогично повысилась концентрация МДА в плазме на 1 сутки после КТТ на 186,28% ( $p<0,001$ ), 7 сутки – на 71,13% ( $p=0,020$ ), 10 сутки – на 58,30% ( $p=0,011$ ), в эритроцитах на 1 сутки после КТТ – на 75,26% ( $p=0,018$ ), 7 сутки – на 55,10% ( $p=0,026$ ), 10 сутки – на 74,97% ( $p=0,009$ ) по сравнению с показателями интактных крыс. Максимальная интенсификация СРО в крови отмечена на 1 сутки после КТТ.

Доказательством связи Fe-индуцированной хемилюминесценции с СРО липидов служат одновременно возникающие интенсивность свечения, потребление кислорода и накопление продуктов ПОЛ, в частности, МДА [55]. Начало медленной вспышки вызвано СРО липидов, преимущественно суммарной фракции липопротеинов низкой и очень низкой плотности [145].

Таблица 8

Показатели свободнорадикального окисления в крови крыс

Условия эксперимента	S в плазме, усл.ед.	S в эритроцитах, усл.ед.	МДА в плазме, мкмоль/л	МДА в эритроцитах, мкмоль/л
Здоровые крысы	11,205±0,137	8,537±0,103	0,904±0,016	8,937±0,088
КТТ, 1 сутки	12,678±0,216*	14,440±0,114*	2,588±0,021*	15,663±0,505*
КТТ, 7 сутки	11,880±0,071*/**	13,887±0,083*/**	1,547±0,007*/**	13,861±0,114*/**
КТТ, 10 сутки	11,914±0,092*/**	13,440±0,031*/**	1,431±0,008*/**	15,637±1,002*/**

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p<0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ ( $p<0,05$ ); \*\*\* - различия статистически значимы по сравнению с 7 сутками КТТ ( $p<0,05$ ).

Повышение хемиллюминесценции плазмы и эритроцитов крови может быть обусловлено увеличением скорости окисления на фоне истощения АОС и (или) количественным снижением субстратов для окисления. В литературе указано, что в период ожогового шока происходит активация процессов липолиза с увеличением количества триацилглицеринов и их переносчиков – липопротеинов очень низкой плотности, наблюдается торможение липогенеза, приводящее к снижению уровня холестерина, липопротеинов высокой плотности и липопротеинов низкой плотности, разобщение всех звеньев липидного обмена (синтеза, транспорта, снижение периода полужизни липидов) [145]. В крови пациентов с ТТ преобладают насыщенные моноеновые жирные кислоты, а полиеновые жирные кислоты используются в качестве пластического материала для синтеза гормонов, а при ОБ происходит увеличение содержания диеновых конъюгатов [312]. В работе С.А. Кантюкова с соавт. [145] методом индуцированной биохемиллюминесценции и определением концентрации ТБК-активных продуктов также установлена активизация СРО в крови при ТТ, интенсивность которого зависела от тяжести поражения.

Самоподдерживаемая инициация ПОЛ приводит к повреждению клеточной стенки и, как следствие, увеличению микроваскулярной проницаемости [180; 403]. При ТТ наблюдается свободно-радикальная дестабилизация мембран клеток, вносящая вклад в развитие полиорганной недостаточности [3]. Наиболее частым компонентом, встречающимся при ОБ, является недостаточность органов дыхания [274]. У пациентов с тяжелой ТТ может развиваться пневмония, к которой приводят нарушение проницаемости капилляров, расстройства микроциркуляции, застойные явления и отек легких, снижение вентиляции и образование в дыхательных путях большого количества слизи [44]. В возникновении острого респираторного дистресс-синдрома основную роль отводят ПОЛ [210; 614; 658; 730; 880].

По данным биохемилюминесценции СРО повысилось в субклеточных фракциях легких, сердца на все исследуемые сутки КТТ, наиболее выраженное в цитозоле на 1 сутки: в легких – на 126,04% ( $p<0,001$ ), сердца – на 119,72% ( $p<0,001$ ) (табл. 9). Полученные данные подтвердил рост концентрации ТБК-активных продуктов в легких на 1, 7, 10 сутки после КТТ в гомогенате на 120,94% ( $p<0,001$ ), 119,18% ( $p<0,001$ ), 99,88% ( $p=0,018$ ), цитоплазматической фракции – на 88,14% ( $p=0,007$ ), 58,72% ( $p=0,013$ ), 57,60% ( $p=0,040$ ), митохондриях – на 78,29% ( $p=0,023$ ), 48,02% ( $p=0,041$ ), 47,01% ( $p=0,022$ ) по сравнению со здоровыми животными (табл. 9).

Таблица 9

## Показатели свободнорадикального окисления в органах крыс

Орган	Субклеточная фракция	Условия эксперимента	S, усл.ед.	МДА, мкмоль/л
печень	гомогенат	здоровые крысы	10,494±0,131	9,191±0,115
		КТТ, 1 сутки	14,675±0,462*	19,310±0,176*
		КТТ, 7 сутки	14,582±0,305*	17,091±0,185**/**
		КТТ, 10 сутки	13,491±0,237*/**/**	15,995±0,175*/**/**
	цитоплазматическая	здоровые крысы	5,930±0,104	5,675±0,064
		КТТ, 1 сутки	9,997±0,118*	9,603±0,073*
		КТТ, 7 сутки	9,568±0,125*	8,314±0,091**/**
		КТТ, 10 сутки	8,126±0,119*/**/**	8,146±0,064**/**
	митохондриальная	здоровые крысы	5,640±0,076	3,579±0,027
		КТТ, 1 сутки	11,938±0,201*	6,095±0,058*
		КТТ, 7 сутки	9,662±0,159**/**	5,284±0,063**/**
		КТТ, 10 сутки	9,576±0,102**/**	5,179±0,044**/**
почки	гомогенат	здоровые крысы	8,040±0,037	8,371±0,065
		КТТ, 1 сутки	10,403±0,086*	14,286±0,098*
		КТТ, 7 сутки	10,440±0,114*	13,740±0,076**/**
		КТТ, 10 сутки	10,325±0,203*	11,029±0,058*/**/**
	цитоплазматическая	здоровые крысы	4,595±0,084	4,034±0,031
		КТТ, 1 сутки	7,272±0,151*	5,843±0,055*
		КТТ, 7 сутки	7,101±0,094*	5,144±0,040**/**
		КТТ, 10 сутки	6,112±0,077*/**/**	5,113±0,061**/**
	митохондриальная	здоровые крысы	3,220±0,075	3,784±0,027
		КТТ, 1 сутки	6,431±0,143*	5,997±0,067*
		КТТ, 7 сутки	5,885±0,112**/**	5,153±0,042**/**
		КТТ, 10 сутки	5,557±0,068**/**	5,133±0,034**/**
сердце	гомогенат	здоровые крысы	6,130±0,092	6,921±0,068
		КТТ, 1 сутки	10,934±0,103*	15,360±0,089*
		КТТ, 7 сутки	9,545±0,126**/**	14,675±0,077**/**
		КТТ, 10 сутки	9,867±0,085**/**	12,375±0,076**/**
	цитоплазматическая	здоровые крысы	3,184±0,052	4,624±0,012
		КТТ, 1 сутки	6,996±0,064*	8,389±0,021*
		КТТ, 7 сутки	6,195±0,093**/**	7,166±0,023**/**
		КТТ, 10 сутки	5,604±0,051*/**/**	7,122±0,035**/**
	митохондриальная	здоровые крысы	1,573±0,008	2,211±0,017
		КТТ, 1 сутки	3,380±0,055*	3,867±0,011*
		КТТ, 7 сутки	2,980±0,031*	3,247±0,018**/**
		КТТ, 10 сутки	2,749±0,037*/**/**	3,176±0,009**/**
легкие	гомогенат	здоровые крысы	5,261±0,213	4,890±0,208

		КТТ, 1 сутки	9,802±0,546*	10,804±0,507*
		КТТ, 7 сутки	8,948±0,611*	10,718±0,209*
		КТТ, 10 сутки	8,627±0,409*	9,774±0,346*/***
	цитоплазматическая	здоровые крысы	3,015±0,106	3,229±0,209
		КТТ, 1 сутки	6,815±0,335*	6,075±0,364*
		КТТ, 7 сутки	6,758±0,448*	5,125±0,228*
	митохондриальная	КТТ, 10 сутки	6,214±0,171*	5,089±0,117*
		здоровые крысы	2,497±0,335	1,668±0,107
		КТТ, 1 сутки	5,404±0,216*	2,974±0,099*
		КТТ, 7 сутки	5,077±0,172*	2,469±0,053*/**
	КТТ, 10 сутки	4,740±0,258*	2,452±0,175*	

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p<0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ ( $p<0,05$ ); \*\*\* - различия статистически значимы по сравнению с 7 сутками КТТ ( $p<0,05$ ).

Выраженное увеличение интенсивности СРО в легких может быть обусловлено миграцией в них нейтрофилов, обладающих специальными системами генерации АФК, что создает угрозу окислительного повреждения этих органов [252]. Реакционные радикалы проникают в окружающие неповрежденные ткани и реагируют с фосфолипидами мембран, сульфгидрильными группами белков и т.д. Оксиданты опосредуют множество процессов: снижают активность сурфактанта, стимулируют образование тромбосана, повышают проницаемость эпителия, ухудшают функцию ресничек, нарушая функционирование легких [370].

Хорошо изучены проявления печеночной недостаточности при ОБ, которые проявляются коагулопатиями, нарушениями пигментного обмена, белково-образовательной и антитоксической функций. Недостаточность печени проявляется в избыточном поступлении в кровь ферментов, синтезируемых в этом органе, и билирубина вследствие очаговых некрозов. Синдром цитолиза занимает центральное место во всей патологии печени. Его начальным звеном является усиление ПОЛ, основной причиной которого считается гипоксия, развивающаяся при ОБ [186; 291; 375].

В печени и почках животных с КТТ СРО повысилось во всех субклеточных фракциях на все исследуемые сутки, наиболее выраженное увеличение СРО отмечено в митохондриях на 1 сутки: в митохондриях печени показатель S возрос на 111,67% ( $p=0,003$ ), концентрация МДА – на 70,30% ( $p=0,027$ ), в митохондриях почек показатель S увеличился на 99,72%

( $p=0,002$ ) и концентрация МДА – на 58,48% ( $p=0,017$ ) по сравнению с показателями интактных крыс (табл. 9).

Проявлениями нарушений почечной функции при ОБ является развитие нефропатий, острой почечной недостаточности. Клинически отмечается снижение диуреза, протеинурия, гематурия, нарастание в сыворотке крови мочевины и креатинина, появление свободного Нв в моче и цилиндров в осадке [38; 210; 437]. АФК, поступившие с кровотоком в почки, подвергаются превращениям под влиянием антиоксидантных ферментов. Лишь защита от  $\text{OH}\cdot$  обеспечивается встроенными в липидный слой мембран АО ( $\alpha$ -токоферол, убихинон, ретиналь). В омывающих мембраны биологических жидкостях присутствуют водорастворимые АО: цистеин, глутатион, аскорбиновая кислота [21; 37]. Свободные радикалы токсичны для эндотелиальных, мезангиальных, эпителиальных клеток, гломерулярной базальной мембраны клубочка почки [71; 297].

Хорошо известно, что АФК и АФА участвуют в развитии патологических состояний сердечной мышцы при различных заболеваниях [210; 334]. В клинике термических поражений сердечно-сосудистая недостаточность диагностируется клинически у 40,1% больных и проявляется тахикардией, нестабильной гемодинамикой с тенденцией к гипотонии, нарушениями ритма сердечной деятельности [44]. В проведенных исследованиях концентрация МДА повысилась на 1, 7, 10 сутки после КТТ в гомогенате сердца на 121,93% ( $p<0,001$ ), 112,04% ( $p<0,001$ ), 78,80% ( $p=0,018$ ), цитозоле – на 81,42% ( $p=0,013$ ), 54,97% ( $p=0,036$ ), 54,02% ( $p=0,039$ ), митохондриях – на 74,89% ( $p=0,013$ ), 46,86% ( $p=0,032$ ), 43,65% ( $p=0,029$ ) по сравнению со здоровыми животными (табл. 9). Активация пероксидации по содержанию ТБК-продуктов может свидетельствовать об усилении свободно-радикального синтеза макроэргов (АТФ) в митохондриях сердца и повышении клеточной проницаемости, нарушенной при ОБ [795]. Повышенный уровень МДА может служить дополнительным маркером развития КС и паренхиматозного поражения органов [180].

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют об активации ПОЛ в паренхиматозных органах при ожоге. Максимальная интенсификация СРО при КТТ выявлена в легких, минимальная – в почках. По данным биохемилюминесценции и концентрации МДА наибольший рост СРО обнаружен на 1 сутки после ТТ в субклеточных фракция органов. У пациентов с политравмой обнаружены признаки ОС и недостаточности АОС [146; 323; 382; 423; 774; 775]. ОС ассоциируется с неблагоприятным исходом [210]. Дисбаланс про- и антиоксидантов, реализующийся в росте свободных радикалов и активации ПОЛ, является важным прогностическим звеном патогенеза полиорганной недостаточности в критических состояниях [273; 516; 533; 579; 582; 655; 670; 701; 713].

Активация ПОЛ сочеталась с развитием синдрома цитолиза, на что указывал рост СРО в эритроцитах. Это свидетельствует о накоплении свободных радикалов, которые приводят к расстройству образования вторичных липидных мессенджеров, участвующих в регуляции активности нейротрансмиттеров (ацетилхолина, допамина, норадреналина). Нарушение баланса между скоростью СРО и мощностью АОС способствует самоускоряющемуся процессу ПОЛ, что приводит к изменению структуры и функции белков, нуклеиновых кислот и других молекул клеток [425; 612]. Выявленная активация СРО при КТТ, вероятно, обусловлена ингибированием ферментов биотрансформации и АОС. Показано, что умеренный рост концентрации АФК стимулирует ферменты АОС, а чрезмерное возрастание свободных радикалов – угнетает их [70; 210].

### **3.1.2. Антиоксидантная система защиты крови и органов при ожоге**

Поскольку активность процессов СРО в первую очередь зависит от состояния АОС, следует отметить снижение ОАА в плазме крови крыс с КТТ на 1 сутки после травмы на 11% ( $p=0,028$ ), 7 сутки – на 3% ( $p=0,435$ ) по сравнению со здоровыми животными (табл. 10). В эритроцитах также выявлено падение активности ферментов АОС. Удельная активность СОД уменьшилась на 1, 7, 10 сутки после КТТ на 30% ( $p=0,012$ ), 55% ( $p=0,007$ ),

25% ( $p=0,021$ ). Удельная активность каталазы в эритроцитах крыс снизилась на 1, 7, 10 сутки после КТТ на 51% ( $p=0,009$ ), 40% ( $p=0,014$ ), 48% ( $p=0,011$ ).

Согласно данным литературы в 1-ые сутки после ожога резко снижается активность каталазы и СОД в зоне повреждения, причем *in vivo* эти изменения затрагивали и неповрежденный эпидермис около очага [69]. Ингибирование каталазы, вероятно, связано с усилением окислительно-восстановительных процессов и снижением энергетического обмена в митохондриях. Кроме того, одним из возможных механизмов изменения активности каталазы при ОБ может быть конформационная модификация молекулы фермента в условиях ОС.

Таблица 10

Показатели антиоксидантной системы защиты крови у животных с комбинированной термической травмой

Условия эксперимента	tg2 $\alpha$ , усл.ед.	СОД, %инг./мин $\times$ мг белка	Каталаза, мкмольН <sub>2</sub> О <sub>2</sub> /мин $\times$ мг белка	ГР, нмоль НАДФН/мин $\times$ мг белка	Гл-6-фДГ, нмоль НАДФН/мин $\times$ мг белка
Здоровые крысы	0,723 $\pm$ 0,012	1037,762 $\pm$ 21,351	39,512 $\pm$ 0,903	95,833 $\pm$ 2,324	40,571 $\pm$ 0,464
КТТ, 1 сутки	0,645 $\pm$ 0,009*	727,671 $\pm$ 10,021*	19,392 $\pm$ 0,281*	56,058 $\pm$ 1,010*	21,857 $\pm$ 0,103*
КТТ, 7 сутки	0,706 $\pm$ 0,007**	466,407 $\pm$ 6,293**/**	23,757 $\pm$ 0,705**/**	60,319 $\pm$ 1,112**/**	25,991 $\pm$ 0,207**/**
КТТ, 10 сутки	0,724 $\pm$ 0,020**/**	773,874 $\pm$ 8,756**/**	20,503 $\pm$ 1,002*	67,361 $\pm$ 0,994**/**	28,852 $\pm$ 0,441**/**

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p<0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ ( $p<0,05$ ); \*\*\* - различия статистически значимы по сравнению с 7 сутками КТТ ( $p<0,05$ ).

Большое значение имеют реакции, катализируемые ГР, так как способствуют поддержанию оптимального уровня GSH, необходимого для стабилизации, прежде всего, ферментов, в активном центре которых имеется каталитически значимый остаток цистеина с реакционно-активной SH-группой [192]. Удельная активность ГР в эритроцитах крыс с КТТ была понижена на 1, 7, 10 сутки после травмы по сравнению со здоровыми животными на 41% ( $p=0,023$ ), 37% ( $p=0,019$ ), 30% ( $p=0,026$ ). При этом отмечено снижение удельной активности Гл-6-фДГ в эритроцитах на 1, 7, 10 сутки после КТТ на 46% ( $p=0,031$ ), 36% ( $p=0,026$ ), 29% ( $p=0,033$ ) (табл. 10).

Ингибирование активности ГР в условиях патологии, с одной стороны, вероятно, вызвано воздействием на фермент полиненасыщенных жирных

кислот [173], с другой стороны, обусловлено высвобождением отдельных фракций мембраносвязанных ферментов, в том числе ферментов АОС. Депрессия глутатионовой защиты крови больных с КТТ может быть обусловлена нарушением ПФП, и, в частности, снижением активности Гл-6-фДГ, что приводит к уменьшению содержания НАДФН, который в эритроцитах включается в реакцию восстановления глутатиона, катализируемую ГР. Низкая активность ГР нарушает соотношение окисленных и восстановленных форм глутатиона и является одной из причин срыва целого ряда метаболических реакций организма при ожоге [165]. Поскольку посредством GSH эритроцит защищает SH-группы своих структурных элементов от дестабилизирующего воздействия свободных радикалов, при его недостатке наступает окисление, денатурация и отложение в мембране Hb (тельца Гейнца-Эрлиха).

Физиологическая роль Гл-6-фДГ заключается в обеспечении работы ГП/ГР и внутриклеточных биосинтетических процессов НАДФН [201], компартментализации биосинтетических процессов в цитоплазме [120], участии Гл-6-фДГ в процессах биотрансформации канцерогенных и лекарственных веществ [20; 63; 201; 414]. Постожеговое снижение активности Гл-6-фДГ в эритроцитах периферической крови следует рассматривать как индикатор перенапряжения физиологической глутатионовой системы в условиях ОС [821]. Глубокая морфологическая и энзиматическая перестройка эритроцитарной популяции стимулирует эритрофагоцитоз в костном мозге, легких, печени, селезенке [821], что приводит к снижению содержания эритроцитов и Hb в периферической крови, наиболее интенсивному в течение первой недели ожоговой токсемии.

Уменьшение удельной активности СОД и каталазы в эритроцитах при КТТ сопровождалось снижением сродства ферментов к субстратам реакции и  $V_{max}/K_t$ .  $K_t$  для СОД увеличилось на 1, 7, 10 сутки после КТТ в 2,1 раза ( $p < 0,001$ ), в 2,3 раза ( $p < 0,001$ ), в 2,2 раза ( $p < 0,001$ ),  $V_{max}/K_t$  СОД уменьшилась на 1, 7, 10 сутки после КТТ в 2,9 раза ( $p < 0,001$ ), в 3,2 раза

( $p < 0,001$ ), в 3,2 раза ( $p < 0,001$ ) по сравнению с показателями здоровых животных (табл. 11). Kt для каталазы возросло на 1, 7, 10 сутки после КТТ в 3,3 раза ( $p < 0,001$ ), в 2,4 раза ( $p < 0,001$ ), в 2,4 раза ( $p < 0,001$ ), Vmax/Kt каталазы уменьшилась на 1, 7, 10 сутки после КТТ в 5,9 раза ( $p < 0,001$ ), в 4,2 раза ( $p < 0,001$ ), в 3,6 раза ( $p < 0,001$ ). Для реакций, катализируемых ГР и Гл-6-фДГ, было характерно снижение Vmax и Vmax/Kt при КТТ.

Таблица 11

Кинетические показатели ферментов антиоксидантной защиты в крови крыс с комбинированной термической травмой

Фермент	Кинетический показатель	здоровые животные	животные с КТТ		
			1 сутки	7 сутки	10 сутки
СОД	Kt, мин	2,63±0,09	5,71±0,08*	6,08±0,05**/**	5,85±0,16*
	Vmax, мкмоль/мин	9,88±0,17	7,31±0,07*	7,12±0,10*	6,94±0,13*
	Vmax/Kt, кмоль/мин <sup>2</sup>	3,76±0,11	1,28±0,04*	1,17±0,06*	1,19±0,07*
Каталаза	Kt, мин	0,79±0,05	2,63±0,12*	1,89±0,07**/**	1,86±0,05**/**
	Vmax, мкмоль/мин	7,85±0,08	4,46±0,20*	4,53±0,08*	5,07±0,12**/**/**
	Vmax/Kt, кмоль/мин <sup>2</sup>	9,94±0,15	1,69±0,04*	2,39±0,06**/**	2,73±0,10**/**/**
ГР	Kt, мин	1,17±0,04	1,21±0,10	1,18±0,06	1,23±0,13
	Vmax, мкмоль/мин	8,59±0,08	5,07±0,05*	5,21±0,09*	6,14±0,13**/**/**
	Vmax/Kt, кмоль/мин <sup>2</sup>	7,34±0,12	4,19±0,08*	4,42±0,11*	4,99±0,17**/**/**
Гл-6-фДГ	Kt, мин	0,58±0,03	0,60±0,05	0,59±0,07	0,65±0,10
	Vmax, мкмоль/мин	7,65±0,12	3,89±0,07*	4,56±0,15**/**	4,92±0,21**/**
	Vmax/Kt, кмоль/мин <sup>2</sup>	13,19±0,06	6,48±0,14*	7,73±0,20**/**	7,57±0,14**/**

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ); \*\*\* - различия статистически значимы по сравнению с 7 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ).

Показано, что основная активность каталазы у здоровых животных обнаружена в цитоплазматической фракции всех исследуемых органов (рис. 10). Известно, что каталаза локализована преимущественно в цитоплазме клетки [24; 98; 322]. Распределение общей активности каталазы у животных на 1, 7, 10 сутки после КТТ аналогично распределению активности фермента в органах здоровых крыс (рис. 11-13) при снижении общей активности во всех фракциях печени, почек, сердца и легких (табл. 12).

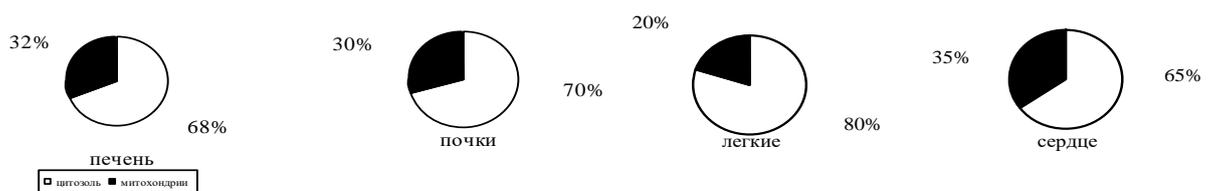


Рис. 10. Общая активность каталазы ( $\text{ммольН}_2\text{О}_2/\text{мин} \times \text{г ткани}$ ) в субклеточных фракциях органов здоровых крыс

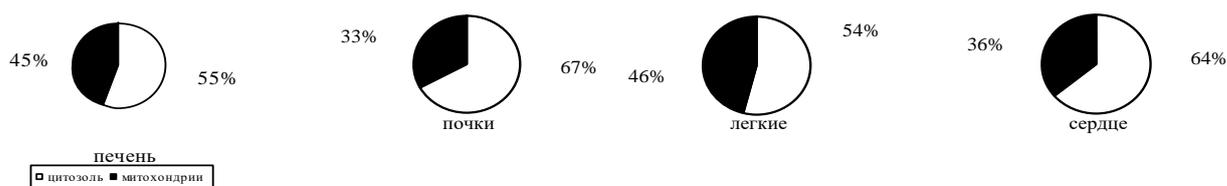


Рис. 11. Общая активность каталазы (ммоль $\text{H}_2\text{O}_2$ /мин $\times$ г ткани) в субклеточных фракциях органов крыс с КТТ (1 сутки)

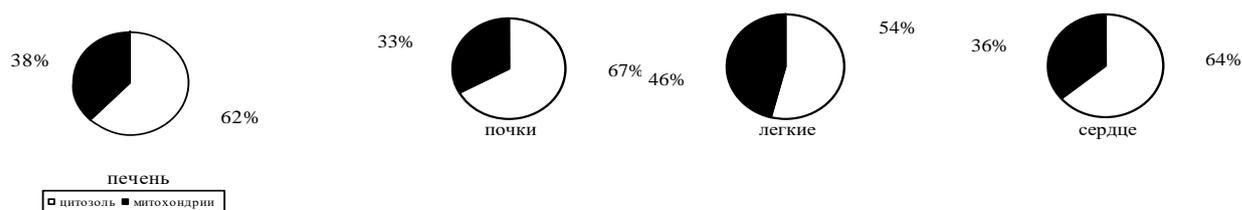


Рис. 12. Общая активность (ммоль $\text{H}_2\text{O}_2$ /мин $\times$ г ткани) каталазы в субклеточных фракциях органов крыс с КТТ (7 сутки)

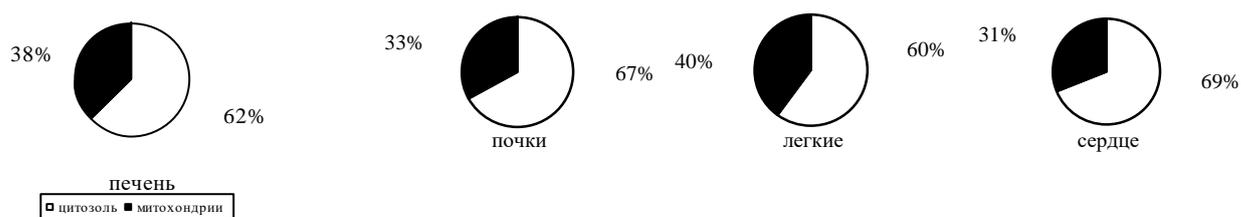


Рис. 13. Общая активность (ммоль $\text{H}_2\text{O}_2$ /мин $\times$ г ткани) каталазы в субклеточных фракциях органов крыс с КТТ (10 сутки)

Как видно из таблицы 12, полученные результаты распределения общей активности каталазы в норме и на 7, 10 сутки после КТТ в гомогенате различных органов соответствовали литературным данным [24], которая располагалась в порядке ее уменьшения: печень > почки > легкие > сердце. У крыс на 1 сутки после КТТ наибольшая общая активность каталазы гомогената была в почках, наименьшая – в сердце.

Таблица 12

Распределение общей активности каталазы (ммоль $\text{H}_2\text{O}_2$ /мин $\times$ г ткани) в гомогенате органов у крыс с комбинированной термической травмой

Условия эксперимента	печень	почки	легкие	сердце
Здоровые крысы	3,699 $\pm$ 0,078	3,227 $\pm$ 0,055	1,220 $\pm$ 0,019	0,933 $\pm$ 0,010
КТТ, 1 сутки	1,604 $\pm$ 0,034*	1,694 $\pm$ 0,023*	0,766 $\pm$ 0,011*	0,463 $\pm$ 0,008*
КТТ, 7 сутки	2,260 $\pm$ 0,031**/**	2,050 $\pm$ 0,014**/**	0,654 $\pm$ 0,008**/**	0,558 $\pm$ 0,007**/**
КТТ, 10 сутки	3,142 $\pm$ 0,044**/**/**	2,844 $\pm$ 0,016**/**/**	0,703 $\pm$ 0,012**/**/**	0,621 $\pm$ 0,013**/**/**

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ); \*\*\* - различия статистически значимы по сравнению с 7 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ).

Основная активность СОД у здоровых животных обнаружена в митохондриях печени, почек, сердца и легких (рис. 14). Cu,Zn-СОД содержится в цитозоле и межмембранном пространстве митохондрий, Mn-СОД локализована в митохондриях [64; 322]. Распределение общей активности СОД у животных с КТТ аналогично распределению активности фермента в органах здоровых крыс при снижении общей активности при КТТ во всех фракциях органов.

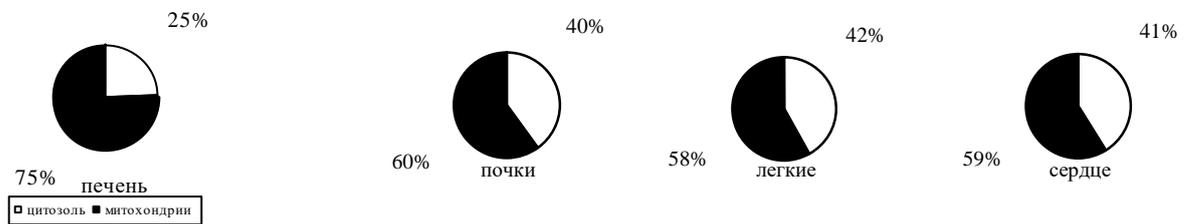


Рис. 14. Общая активность (%инг./мин×г ткани) супероксиддисмутаза в субклеточных фракциях органов здоровых крыс

У животных с КТТ на 1 (рис. 15), 7 (рис. 16) и 10 сутки (рис. 17) после травмы в митохондриях органов обнаружена большая часть суммарной активности СОД. Полученные результаты распределения общей активности СОД в норме и на 7 сутки после КТТ в гомогенате различных органов соответствовали данным литературы [104]. При этом общая активность СОД располагалась в порядке ее уменьшения: печень > сердце > почки > легкие. У крыс с КТТ на 1 и 10 сутки общая активность СОД располагалась в порядке ее уменьшения: печень > сердце > легкие > почки (табл. 13).

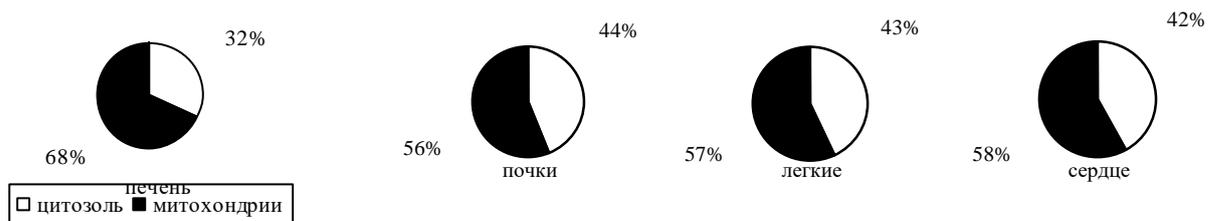


Рис. 15. Общая активность (%инг./мин×г ткани) супероксиддисмутаза в субклеточных фракциях органов крыс с КТТ (1 сутки)

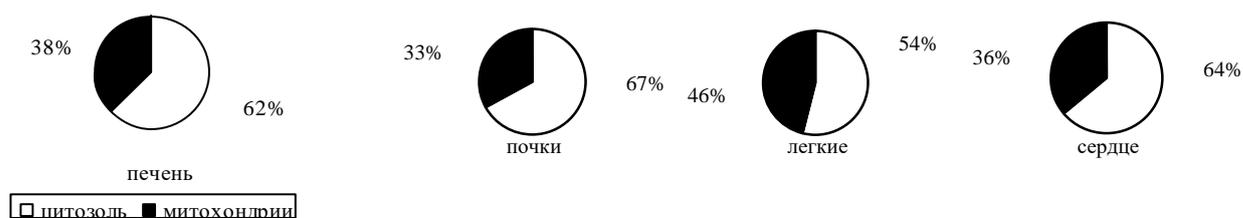


Рис. 16. Общая активность (%инг./мин×г ткани) супероксиддисмутазы в субклеточных фракциях органов крыс с КТТ (7 сутки)

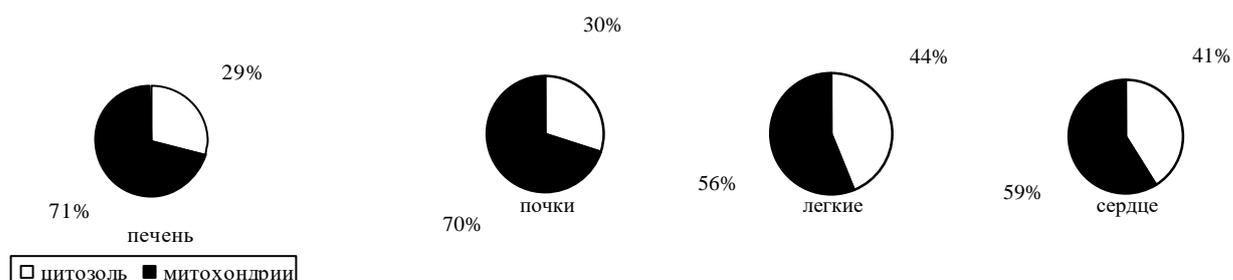


Рис. 17. Общая активность (%инг./мин×г ткани) супероксиддисмутазы в субклеточных фракциях органов крыс с КТТ (10 сутки)

Таблица 13

Распределение общей активности супероксиддисмутазы (%инг./мин×г ткани) в гомогенате органов у крыс с комбинированной термической травмой

Условия эксперимента	печень	почки	легкие	сердце
Здоровые крысы	79,906±2,018	53,894±1,055	51,319±0,667	58,560±0,856
КТТ, 1 сутки	61,832±1,034*	33,839±0,793*	40,153±0,481*	42,746±0,785*
КТТ, 7 сутки	60,001±1,131*	40,020±0,687*/**	34,403±0,988*/**	45,504±0,907*
КТТ, 10 сутки	59,460±0,844*/***	36,786±0,916*/***	38,357±0,512*	50,671±0,663*/**/**

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ); \*\*\* - различия статистически значимы по сравнению с 7 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ).

В ходе проведенного исследования выявлено, что основная активность ГР у здоровых животных обнаружена в цитоплазматической фракции органов (рис.18). ГР является преимущественно цитозольным ферментом [139; 140]. Распределение общей активности ГР у животных с КТТ на 1 (рис. 19), 7 (рис. 20) и 10 сутки (рис. 21) после травмы аналогично распределению активности фермента в органах здоровых крыс при более низкой общей активности во всех фракциях печени, почек, сердца и легких (табл. 14).

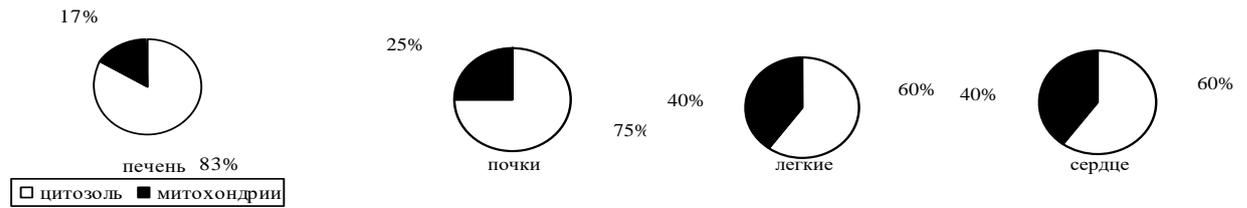


Рис. 18. Общая активность ГР (мкмоль НАДФН/мин×г ткани) в субклеточных фракциях органов здоровых крыс

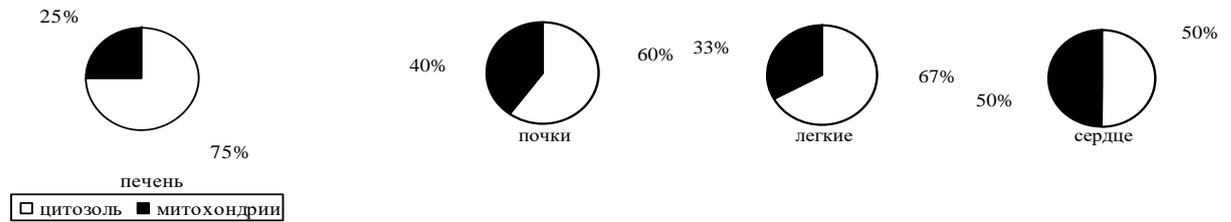


Рис. 19. Общая активность ГР (мкмоль НАДФН/мин×г ткани) в субклеточных фракциях органов крыс с КТТ (1 сутки)

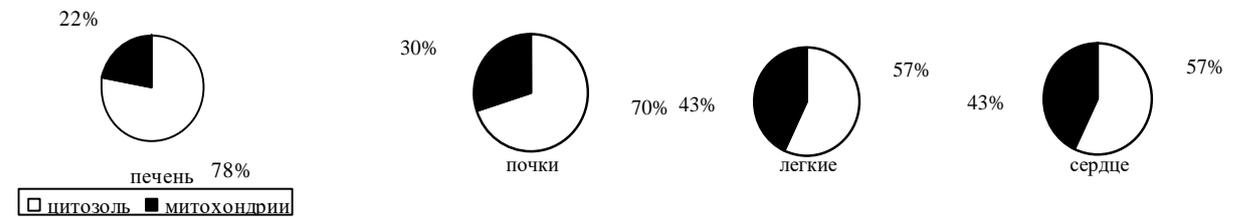


Рис. 20. Общая активность ГР (мкмоль НАДФН/мин×г ткани) в субклеточных фракциях органов крыс с КТТ (7 сутки)

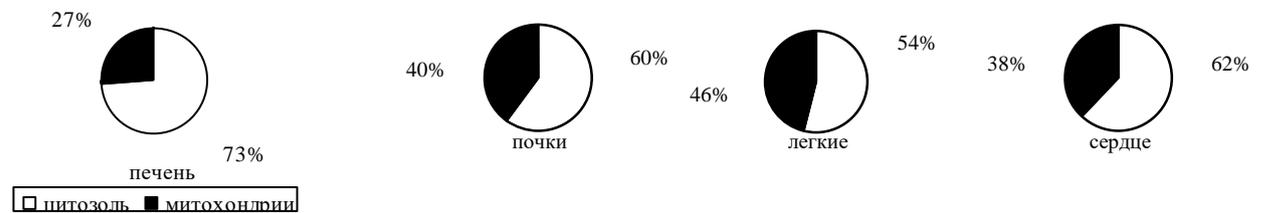


Рис. 21. Общая активность ГР (мкмоль НАДФН/мин×г ткани) в субклеточных фракциях органов крыс с КТТ (10 сутки)

Значения общей активности ГР в исследуемых органах в норме и при КТТ приведены в таблице 14. Полученные результаты распределения общей активности ГР в норме и на 1 сутки после КТТ в гомогенате органов соответствовали данным литературы: почки > печень > сердце > легкие. У крыс на 7 сутки после КТТ общая активность ГР располагалась: печень > почки > сердце > легкие. На 10 сутки после КТТ общая активность ГР располагалась следующим образом: печень > почки > легкие > сердце.

Распределение общей активности ГР (мкмоль НАДФН/мин×г ткани)  
в гомогенате органов у крыс с комбинированной термической травмой

Условия эксперимента	печень	почки	легкие	сердце
Здоровые крысы	13,698±1,008	21,271±1,155	4,150±0,119	5,363±0,074
КТТ, 1 сутки	4,461±0,134*	5,754±0,223*	1,532±0,047*	2,389±0,058*
КТТ, 7 сутки	8,902±0,085*/**	8,289±0,094*/**	1,936±0,112*/**	2,668±0,027*/**
КТТ, 10 сутки	10,612±0,944*/**	6,224±0,516*/**	3,466±0,108*/**	2,883±0,033*

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ); \*\*\* - различия статистически значимы по сравнению с 7 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ).

Основная активность Гл-6-фДГ у здоровых животных (рис. 22) и животных с КТТ (рис. 23, 24, 25) обнаружена в цитоплазматической фракции исследуемых органов на фоне более низкой общей активности при КТТ во всех фракциях печени, почек, сердца и легких. Значения общей активности Гл-6-фДГ в гомогенате органов здоровых крыс и при КТТ приведены в таблице 15. Полученные результаты распределения общей активности Гл-6-фДГ в норме и на 7 сутки после КТТ в гомогенате органов соответствовали данным литературы [201; 414], которая располагалась: почки > печень > сердце > легкие. На 1 и 10 сутки после КТТ общая активность Гл-6-фДГ располагалась: печень > почки > сердце > легкие.

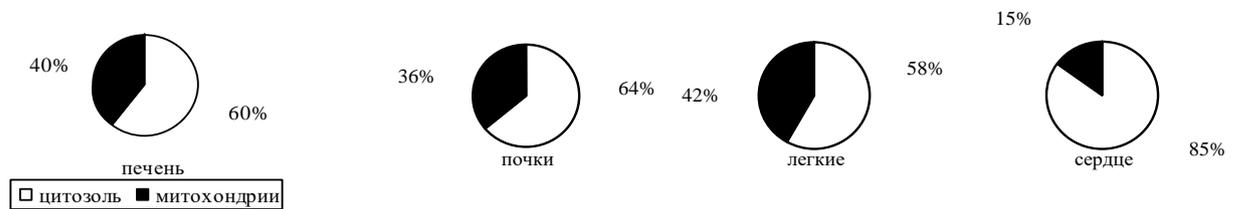


Рис. 22. Общая активность Гл-6-фДГ (мкмоль НАДФН/мин×г ткани) в субклеточных фракциях органов здоровых крыс

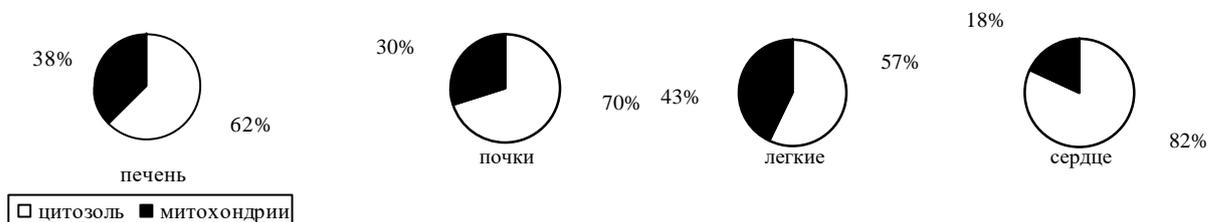


Рис. 23. Общая активность Гл-6-фДГ (мкмоль НАДФН/мин×г ткани) в субклеточных фракциях органов крыс с КТТ (1 сутки)

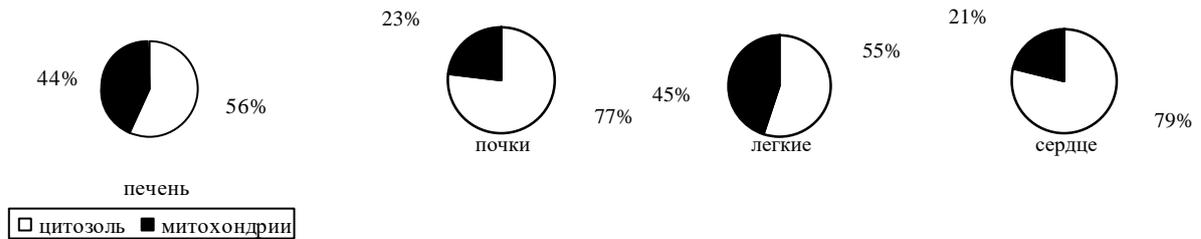


Рис. 24. Общая активность Гл-6-фДГ (мкмоль НАДФН/мин×г ткани) в субклеточных фракциях органов крыс с КТТ (7 сутки)

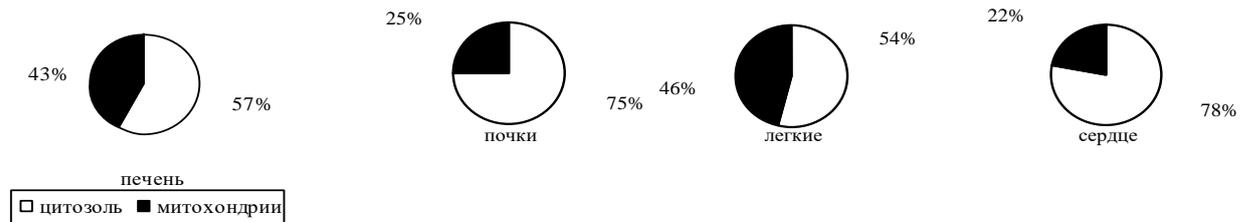


Рис. 25. Общая активность Гл-6-фДГ (мкмоль НАДФН/мин×г ткани) в субклеточных фракциях органов крыс с КТТ (10 сутки)

Таблица 15

Распределение общей активности Гл-6-фДГ (мкмоль НАДФН/мин×г ткани) в гомогенате органов у крыс с комбинированной термической травмой

Условия эксперимента	печень	почки	легкие	сердце
Здоровые крысы	77,233±2,241	79,945±3,057	44,135±1,019	55,705±0,998
КТТ, 1 сутки	43,727±1,034*	42,649±1,022*	20,257±0,212*	27,548±0,638*
КТТ, 7 сутки	44,883±0,871*	47,038±1,009**/**	25,067±0,659**/**	25,883±0,587*
КТТ, 10 сутки	53,680±1,004 **/**/**	52,790±0,686 **/**/**	30,930±0,992 **/**/**	40,353±0,313 **/**/**

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ); \*\*\* - различия статистически значимы по сравнению с 7 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ).

Выявлено снижение активности СОД и каталазы во всех субклеточных фракциях печени на все исследуемые сутки после КТТ, что может привести к накоплению реакционноспособных пероксида водорода и супероксидных радикалов. Удельная активность ГР и Гл-6-фДГ уменьшилась в гомогенате, цитозоле, митохондриях печени на 1, 7, 10 сутки после КТТ по сравнению со здоровыми животными (табл. 16). Одним из возможных механизмов изменения активности ГР при заболеваниях печени различной этиологии могут являться конформационные модификации молекулы фермента в условиях ОС [2]. ОАА в органах крыс характеризовалась большой амплитудой колебания значений при КТТ (табл. 16). Отмечено снижение показателя  $\text{tg } 2\alpha$  в органах на 1, 7, 10 сутки после КТТ.

Общая антиоксидантная активность и удельная активность ферментов  
в органах крыс с комбинированной термической травмой

Орган	Субклеточная фракция	Условия эксперимента	tg2α, усл.ед.	СОД, %инг./мин×мг белка	Каталаза, мкмольН <sub>2</sub> О <sub>2</sub> /мин×мг белка	ГР, нмоль НАДФН/мин×мг белка	Гл-6-фДГ, нмоль НАДФН/мин×мг белка	
Печень	гомогенат	Здоровые крысы	0,858±0,012	1744,894±15,058	43,864±1,213	62,810±2,524	417,190±9,213	
		КТТ, 1 сутки	0,507±0,009*	912,082±10,214*	20,185±1,234*	27,126±1,046*	126,423±5,604*	
		КТТ, 7 сутки	0,572±0,005***	1005,443±18,360**/	37,701±2,031**/	51,261±2,473**/	265,273±7,341**/	
		КТТ, 10 сутки	0,791±0,010**/	1454,550±21,037**/	35,087±1,126**/	48,182±1,987**/	288,033±8,093**/	
	цитоплазматическая	Здоровые крысы	0,699±0,006	1701,04±24,498	40,555±1,334	61,451±3,016	245,888±6,105	
		КТТ, 1 сутки	0,429±0,008*	797,948±14,885*	24,218±1,046*	37,380±1,226*	138,043±4,472*	
		КТТ, 7 сутки	0,451±0,010*	1149,804±18,403**/	29,792±2,109*	40,324±0,869*	140,264±5,017*	
		КТТ, 10 сутки	0,658±0,014**/	1333,330±21,578**/	33,910±1,574**/	50,163±1,354**/	165,882±6,692**/	
	митохондриальная	Здоровые крысы	0,668±0,007	1577,134±28,831	19,025±1,011	9,554±0,554	177,235±3,994	
		КТТ, 1 сутки	0,334±0,008*	869,039±17,957*	12,527±0,996*	3,979±0,775*	104,483±4,445*	
		КТТ, 7 сутки	0,475±0,009**/	936,127±22,955**/	12,957±1,005*	4,295±0,286*	111,236±3,746*	
		КТТ, 10 сутки	0,630±0,012**/	1300,00±34,093**/	13,083±1,123*	4,352±0,119*	132,947±2,674**/	
	Почки	Гомогенат	Здоровые крысы	0,598±0,010	1342,058±40,356	29,783±2,042	74,704±3,006	545,675±8,093
			КТТ, 1 сутки	0,344±0,007*	862,802±25,671*	17,717±1,231*	51,536±1,027*	237,064±4,538*
			КТТ, 7 сутки	0,400±0,014**/	819,430±18,229*	20,570±0,997*	22,684±0,885**/	215,493±3,736**/
			КТТ, 10 сутки	0,509±0,012**/	913,805±14,057*	19,661±0,875*	59,552±2,557**/	251,523±5,052**/
цитоплазматическая		Здоровые крысы	0,306±0,008	1014,833±12,538	29,638±1,017	45,213±1,031	241,975±6,607	
		КТТ, 1 сутки	0,113±0,010*	927,653±22,496*	17,275±1,014*	39,269±2,204*	112,553±5,001*	
		КТТ, 7 сутки	0,190±0,009**/	891,645±17,563*	18,888±0,574*	21,331±0,957**/	106,960±4,869*	
		КТТ, 10 сутки	0,216±0,017**/	959,580±10,434**/	19,380±0,678*	26,803±1,323**/	133,347±3,869**/	
митохондриальная		Здоровые крысы	0,436±0,013	932,174±30,021	24,015±2,004	37,072±2,004	345,672±9,038	
		КТТ, 1 сутки	0,221±0,008*	859,570±25,267	14,750±1,016*	25,470±1,116*	154,883±7,005*	
		КТТ, 7 сутки	0,266±0,010**/	839,157±12,995*	16,986±0,877*	19,313±1,073**/	139,202±5,112*	
		КТТ, 10 сутки	0,301±0,011**/	893,857±17,058	15,334±1,067*	23,996±1,044*	205,530±6,642**/	
Сердце		гомогенат	Здоровые крысы	0,329±0,006	1627,293±43,658	22,612±1,231	55,078±3,301	344,465±7,012
			КТТ, 1 сутки	0,208±0,010*	1235,832±30,674*	14,027±0,879*	21,224±1,375*	201,445±6,253*
			КТТ, 7 сутки	0,235±0,005**/	1150,000±45,047*	15,419±0,994*	23,661±1,286*	254,387±4,002**/
			КТТ, 10 сутки	0,180±0,007	780,439	16,621	53,267	261,029

		10 сутки	*/***	±16,325 */**/**	±0,564*	±2,058 **/**	±5,386 */**	
цитоплазм атическая	Здоровые крысы	Здоровые крысы	0,294±0,006	1345,507 ±33,754	15,261 ±1,120	42,825 ±1,996	234,675 ±4,557	
		КТТ, 1 сутки	0,191±0,011 *	988,386 ±32,546*	9,189 ±0,675*	23,492 ±2,008*	104,730 ±3,011*	
		КТТ, 7 сутки	0,172±0,007 *	813,330 ±12,037*/**	10,343 ±0,748*	28,871 ±0,894*/**	112,343 ±4,005*	
		КТТ, 10 сутки	0,163±0,013 *	795,274 ±23,065*/**	12,283 ±0,983*/**	46,446 ±2,056 **/**	132,676 ±5,117*/**/**	
митохонд риальная	Здоровые крысы	Здоровые крысы	0,224±0,021	1574,752 ±27,859	11,174 ±0,907	26,613 ±1,018	195,283 ±4,896	
		КТТ, 1 сутки	0,186±0,017	1184,384 ±34,657*	5,985 ±0,236*	16,435 ±0,768*	67,68 ±2,345*	
		КТТ, 7 сутки	0,108±0,009 */**	1102,344 ±17,895*	6,238 ±0,178*	19,358 ±1,223*	91,887 ±1,988*/**	
		КТТ, 10 сутки	0,105±0,011 */**	1093,222 ±32,439*	6,688 ±0,287*	19,449 ±1,054*	109,573 ±3,704*/**/**	
Легкие	гомогенат	Здоровые крысы	0,286±0,016	875,012 ±12,786	23,917 ±1,046	49,230 ±2,012	140,655 ±5,025	
		КТТ, 1 сутки	0,172±0,018 *	600,000 ±23,057*	15,025 ±0,773*	21,325 ±1,378*	67,470 ±2,013*	
		КТТ, 7 сутки	0,215±0,012 */**	612,057 ±11,346*	15,720 ±0,897*	21,984 ±1,052*	72,052 ±0,997*	
		КТТ, 10 сутки	0,214±0,014 */**	651,333 ±21,831*	17,154 ±1,003*	43,344 ±0,905 **/**	98,230 ±3,004 **/**	
	цитоплазм атическая	Здоровые крысы	Здоровые крысы	0,219±0,015	739,970 ±19,279	18,907 ±0,996	28,315 ±1,001	102,380 ±3,121
			КТТ, 1 сутки	0,132±0,013 *	586,589 ±12,245*	11,266 ±0,764*	13,253 ±0,769*	57,232 ±1,026*
			КТТ, 7 сутки	0,135±0,008 *	619,440 ±15,206*	13,743 ±0,553*	18,236 ±1,007*/**	60,430 ±2,702*
			КТТ, 10 сутки	0,153±0,013 *	652,670 ±22,063*/**	15,920 ±0,453*/**	18,933 ±1,210*/**	62,781 ±1,665*/**
	митохонд риальная	Здоровые крысы	Здоровые крысы	0,221±0,016	814,027 ±12,334	16,917 ±0,352	23,133 ±1,204	35,855 ±2,105
			КТТ, 1 сутки	0,175±0,006 *	544,000 ±21,056*	10,066 ±0,274*	10,381 ±0,755*	13,064 ±0,768*
			КТТ, 7 сутки	0,189±0,010	551,414 ±14,003*	10,565 ±0,122*	11,061 ±1,003*	15,768 ±0,549*/**
			КТТ, 10 сутки	0,186±0,018	598,723 ±30,054*	11,817 ±0,113*	21,143 ±1,115 **/**	18,115 ±1,023*/**

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ); \*\*\* - различия статистически значимы по сравнению с 7 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ).

Как физиологически неразрывные процессы, печень и почки объединяют обезвреживающая и экскреторная функции. Наблюдается усиление функций одного органа при повреждении другого, а также последовательное их вовлечение в патологический процесс [71]. Удельная активность СОД уменьшилась на 1, 7, 10 сутки после КТТ в гомогенате почек на 36% ( $p = 0,006$ ), 39% ( $p = 0,010$ ), 32% ( $p = 0,015$ ), цитозоле почек – на 8% ( $p = 0,037$ ), 12% ( $p = 0,030$ ), 5% ( $p = 0,042$ ), митохондриях почек – на 7 сутки после КТТ на 10% ( $p = 0,034$ ) по сравнению со здоровыми животными. Во всех субклеточных фракциях почек отмечено снижение удельной активности

каталазы, ГР и Гл-6-фДГ на 1, 7 и 10 сутки после КТТ (табл. 16). Выраженное снижение Гл-6-фДГ в субклеточных фракциях почек способствовало наиболее интенсивному ингибированию ГР.

Во всех субклеточных фракциях сердца, легких отмечено снижение удельной активности СОД, каталазы, Гл-6-фДГ на 1, 7, 10 сутки после КТТ. Удельная активность ГР уменьшилась после КТТ в гомогенате сердца на 1 сутки в 2,6 раза ( $p < 0,001$ ), 7 сутки – в 2,3 раза ( $p < 0,001$ ), в цитозоле сердца на 1 сутки – на 45% ( $p = 0,008$ ), 7 сутки – на 33% ( $p = 0,019$ ), в митохондриях сердца на 1 сутки – на 38% ( $p = 0,006$ ), 7 сутки – на 27% ( $p = 0,010$ ), 10 сутки – на 27% ( $p = 0,021$ ) (табл. 16). Удельная активность ГР уменьшилась в гомогенате легких на 1 сутки после КТТ в 2,3 раза ( $p < 0,001$ ), 7 сутки – в 2,2 раза ( $p < 0,001$ ), 10 сутки – на 12% ( $p = 0,037$ ), в цитозоле легких на 1 сутки после КТТ – в 2,1 раза ( $p < 0,001$ ), 7 сутки – на 36% ( $p = 0,014$ ), 10 сутки – на 33% ( $p = 0,021$ ), в митохондриях на 1 сутки после КТТ – в 2,2 раза ( $p < 0,001$ ), 7 сутки – в 2,1 раза ( $p < 0,001$ ), что могло ослабить АОС и способствовать вторичному повреждению органа [37].

Изучение морфологического состояния печени, почек и миокарда крыс при обширных глубоких ожогах выявило значительные изменения их архитектоники с максимальной степенью изменений в паренхиме почек, которые являются «критическим органом», определяя исход ОБ [69; 133]. В легких млекопитающих обнаружена СОД (~135000 Да), гомотетрамер, содержит 4 атома меди, обладает гидрофобными свойствами [59].

Изменения активности оксидоредуктаз при КТТ сопровождались изменениями их кинетических параметров. После КТТ по сравнению с показателями здоровых животных в гомогенате, цитозоле и митохондриях печени показано повышение  $K_t$  для СОД на 1 сутки в 2,3 раза ( $p < 0,001$ ), на 86% ( $p < 0,001$ ) и 74% ( $p = 0,003$ ), на 7 сутки – на 70% ( $p = 0,005$ ), 58% ( $p = 0,010$ ) и в 2,0 раза ( $p < 0,001$ ), на 10 сутки – на 95% ( $p < 0,001$ ), в 2,0 раза ( $p < 0,001$ ) и на 92% ( $p < 0,001$ ) и снижение  $V_{max}/K_t$  на 1, 7 и 10 сутки (табл. 17).

В субклеточных фракциях почек, сердца после КТТ  $V_{\max}$ ,  $V_{\max}/Kt$  для СОД уменьшились на 1, 7, 10сутки. После КТТ по сравнению с показателями здоровых животных в гомогенате, цитозоле и митохондриях легких  $V_{\max}/Kt$  СОД уменьшилась на 1 сутки в 5,1 раза ( $p<0,001$ ), 5,2 раза ( $p<0,001$ ), 3,8 раза ( $p<0,001$ ), 7 сутки – в 7,9 раза ( $p<0,001$ ), 4,3 раза ( $p<0,001$ ), 6,9 раза ( $p<0,001$ ), 10 сутки – в 3,4 раза ( $p<0,001$ ), 3,2 раза ( $p<0,001$ ), 5,7 раза ( $p<0,001$ ),  $Kt$  для СОД увеличилось на 1, 7, 10 сутки (табл. 17).

Таблица 17

Кинетические показатели супероксиддисмутазы в субклеточных фракциях органов крыс с комбинированной термической травмой

Орган	Субклеточная фракция	Кинетический показатель	здоровые животные	животные с КТТ		
				1 сутки	7 сутки	10 сутки
Печень	Гомогенат	$Kt$ , мин	3,45±0,11	7,93±0,12*	5,88±0,18*/**	6,72±0,24 */**/**
		$V_{\max}$ , мкмоль/мин	12,63±0,17	8,25±0,21*	10,43±0,32*/**	8,86±0,13 */**/**
		$V_{\max}/Kt$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	3,66±0,07	1,04±0,03*	1,77±0,10*/**	1,32±0,08 */**/**
	Цитоплазматическая фракция	$Kt$ , мин	5,62±0,13	10,46±0,33*	8,88±0,17*/**	11,01±0,35 */**/**
		$V_{\max}$ , мкмоль/мин	14,97±0,24	10,58±0,17*	11,19±0,24*	9,67±0,17 */**/**
		$V_{\max}/Kt$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	2,66±0,08	1,01±0,04*	1,26±0,05*/**	0,88±0,09*/**/**
	Митохондриальная фракция	$Kt$ , мин	7,63±0,10	13,28±0,19*	15,06±0,34*/**	14,67±0,32*/**
		$V_{\max}$ , мкмоль/мин	15,08±0,26	9,06±0,11*	9,42±0,21*	9,68±0,25*/**
		$V_{\max}/Kt$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	1,98±0,05	0,68±0,02*	0,63±0,04*	0,66±0,07*
Почки	Гомогенат	$Kt$ , мин	1,96±0,03	1,99±0,27	1,94±0,12	2,01±0,14
		$V_{\max}$ , мкмоль/мин	8,69±0,14	4,03±0,19*	3,77±0,16*	4,36±0,28*/**/**
		$V_{\max}/Kt$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	5,43±0,11	2,03±0,10*	1,94±0,13*	2,17±0,15*
	цитоплазматическая фракция	$Kt$ , мин	1,24±0,06	1,25±0,08	1,22±0,07	1,19±0,08
		$V_{\max}$ , мкмоль/мин	7,43±0,12	3,55±0,22*	3,87±0,15*	2,36±0,10 */**/**
		$V_{\max}/Kt$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	5,99±0,27	2,84±0,16*	3,17±0,20*	1,98±0,24 */**/**
	Митохондриальная фракция	$Kt$ , мин	1,47±0,06	1,50±0,12	1,48±0,13	1,47±0,11
		$V_{\max}$ , мкмоль/мин	6,84±0,23	2,68±0,17*	2,97±0,15*	3,65±0,21 */**/**
		$V_{\max}/Kt$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	4,65±0,14	1,79±0,13*	2,01±0,18*	2,48±0,09 */**/**
Сердце	Гомогенат	$Kt$ , мин	2,15±0,11	2,20±0,19	2,09±0,08	2,13±0,11
		$V_{\max}$ , мкмоль/мин	10,66±0,33	6,87±0,15*	6,34±0,27*	5,99±0,32*/**
		$V_{\max}/Kt$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	4,96±0,13	3,12±0,19*	3,03±0,14*	2,81±0,16*

	цитоплазматическая фракция	Kt, мин	1,98±0,07	1,91±0,10	1,87±0,11	1,95±0,08
		Vmax, мкмоль/мин	8,48±0,31	4,43±0,21*	5,11±0,09*/**	5,67±0,21 */**/**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	4,28±0,15	2,32±0,12*	2,73±0,12*	2,91±0,17*/**
	Митохондриальная фракция	Kt, мин	2,06±0,12	2,12±0,08	2,09±0,11	2,05±0,09
		Vmax, мкмоль/мин	7,25±0,21	4,58±0,11*	3,99±0,08*/**	3,67±0,10*/**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	3,52±0,23	2,16±0,09*	1,91±0,07*/**	1,79±0,12*/**
легкие	Гомогенат	Kt, мин	1,14±0,09	3,12±0,10*	3,87±0,13*/**	2,21±0,09 */**/**
		Vmax, мкмоль/мин	9,44±0,10	5,12±0,11*	4,03±0,11*/**	5,33±0,11*/**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	8,28±0,11	1,64±0,14*	1,04±0,05*/**	2,41±0,08 */**/**
	цитоплазматическая фракция	Kt, мин	0,87±0,04	2,54±0,20*	2,09±0,08*/**	1,73±0,09 */**/**
		Vmax, мкмоль/мин	8,37±0,12	4,68±0,31*	4,70±0,19*	5,15±0,14*
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	9,62±0,20	1,84±0,12*	2,25±0,10*/**	2,98±0,21 */**/**
	Митохондриальная фракция	Kt, мин	0,63±0,05	1,34±0,07*	1,98±0,13*/**	1,75±0,12*/**
		Vmax, мкмоль/мин	8,02±0,09	4,49±0,10*	3,64±0,10*/**	3,88±0,11*/**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	12,73±0,17	3,35±0,13*	1,84±0,09*/**	2,22±0,16 */**/**

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p<0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ ( $p<0,05$ ); \*\*\* - различия статистически значимы по сравнению с 7 сутками КТТ ( $p<0,05$ ).

Уменьшение удельной активности каталазы в субклеточных фракциях печени, почек, сердца и легких на 1, 7 и 10 сутки после КТТ обусловлено снижением сродства фермента к  $H_2O_2$  (повышением Kt) и Vmax/Kt. В сердце при КТТ выявлено уменьшение Vmax каталазы в гомогенате, цитозоле и митохондриях после КТТ по сравнению с показателями здоровых животных на 1 сутки на 47% ( $p=0,008$ ), в 2,1 раза ( $p<0,001$ ), в 2,1 раза ( $p<0,001$ ), 7 сутки – в 2,2 раза ( $p=0,005$ ), 2,0 раза ( $p<0,001$ ), на 46% ( $p<0,001$ ), 10 сутки – в 2,0 раза ( $p<0,001$ ), на 46% ( $p<0,001$ ), 38% ( $p<0,001$ ) (табл. 18).

Таблица 18

Кинетические показатели каталазы в субклеточных фракциях органов крыс с комбинированной термической травмой

Орган	Субклеточная фракция	Кинетический показатель	здоровые животные	животные с КТТ		
				1 сутки	7 сутки	10 сутки
Печень	Гомогенат	Kt, мин	0,86±0,05	1,99±0,02*	1,63±0,05*/**	1,87±0,04*/**
		Vmax, мкмоль/мин	7,94±0,03	7,99±0,10	7,89±0,13	7,95±0,11
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	9,23±0,04	4,02±0,05*	4,84±0,10*/**	4,25±0,07 */**/**

	Цитоплазматическая фракция	Kt, мин	0,64±0,02	2,08±0,01*	1,45±0,06*/**	1,21±0,03 */**/**	
		Vmax, мкмоль/мин	7,03±0,06	7,05±0,09	6,99±0,15	7,06±0,08	
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	10,98±0,08	3,39±0,04*	4,82±0,11*/**	5,83±0,07 */**/**	
	Митохондриальная фракция	Kt, мин	0,67±0,02	1,76±0,03*	1,55±0,06*/**	1,08±0,09 */**/**	
		Vmax, мкмоль/мин	6,69±0,08	6,72±0,12	6,70±0,08	6,63±0,12	
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	9,99±0,05	3,82±0,07*	4,32±0,10*/**	6,14±0,08 */**/**	
Почки	Гомогенат	Kt, мин	0,59±0,01	1,77±0,04*	1,42±0,05*/**	1,63±0,09*	
		Vmax, мкмоль/мин	8,99±0,07	9,03±0,14	9,10±0,09	8,97±0,17	
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	15,24±0,10	5,10±0,08*	6,41±0,014*/**	5,50±0,21*/**	
	цитоплазматическая фракция	Kt, мин	0,48±0,02	0,85±0,02*	1,02±0,03*/**	1,56±0,08 */**/**	
		Vmax, мкмоль/мин	7,36±0,08	7,39±0,11	7,40±0,09	7,35±0,12	
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	15,33±0,10	8,69±0,13*	7,25±0,10*/**	4,71±0,14 */**/**	
	Митохондриальная фракция	Kt, мин	0,52±0,07	1,60±0,07*	1,13±0,07*/**	1,48±0,05*/**	
		Vmax, мкмоль/мин	6,58±0,22	6,60±0,09	6,61±0,15	6,55±0,13	
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	12,65±0,88	4,13±0,05*	5,85±0,10*/**	4,43±0,12 */**/**	
	Сердце	Гомогенат	Kt, мин	0,46±0,04	0,93±0,06*	1,12±0,04*/**	1,08±0,05*
			Vmax, мкмоль/мин	10,42±0,76	5,55±0,08*	4,82±0,08*/**	5,13±0,08 */**/**
			Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	22,65±1,02	5,97±0,11*	4,30±0,08*/**	4,75±0,15 */**/**
цитоплазматическая фракция		Kt, мин	0,49±0,03	1,24±0,03*	1,22±0,01*	0,65±0,02 */**/**	
		Vmax, мкмоль/мин	7,40±0,18	3,46±0,03*	3,77±0,11*/**	4,02±0,09*/**	
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	15,10±0,76	2,79±0,05*	3,09±0,05*/**	6,18±0,13 */**/**	
Митохондриальная фракция		Kt, мин	0,50±0,02	1,66±0,07*	1,50±0,02*	1,50±0,07*	
		Vmax, мкмоль/мин	8,45±0,32	4,01±0,08*	4,56±0,12*/**	5,32±0,21 */**/**	
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	16,90±0,57	2,42±0,05*	3,04±0,07*/**	3,55±0,10 */**/**	
легкие		Гомогенат	Kt, мин	0,62±0,05	2,04±0,09*	1,68±0,04*/**	1,11±0,04 */**/**
			Vmax, мкмоль/мин	5,44±0,20	5,49±0,10	5,39±0,10	5,46±0,13
			Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	8,77±0,13	2,69±0,08*	3,21±0,10*/**	4,92±0,10 */**/**
	цитоплазматическая фракция	Kt, мин	0,53±0,02	1,49±0,07*	1,44±0,08*	1,05±0,08 */**/**	
		Vmax, мкмоль/мин	5,26±0,10	5,22±0,11	5,29±0,13	5,27±0,13	
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	9,93±0,18	3,50±0,06*	3,67±0,08*	5,02±0,06 */**/**	
	Митохондриальная фракция	Kt, мин	0,38±0,03	1,07±0,04*	0,99±0,06*	0,89±0,07*	
		Vmax, мкмоль/мин	4,27±0,11	4,30±0,16	4,25±0,11	4,29±0,14	

фракция	Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	11,24±0,08	4,02±0,07*	4,29±0,12*	4,82±0,11 */**/**
---------	-------------------------------------	------------	------------	------------	----------------------

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами (p<0,05); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ (p<0,05); \*\*\* - различия статистически значимы по сравнению с 7 сутками КТТ (p<0,05).

Ингибирование удельной активности ГР в печени, сердце и легких на 1, 7 и 10 сутки после КТТ обусловлено повышением Kt, снижением Vmax и Vmax/Kt. В гомогенате, цитозоле и митохондриях почек после КТТ по сравнению с показателями здоровых животных Vmax/Kt ГР снизилась на 1 сутки на 45% (p=0,007), 42% (p=0,012), 38% (p=0,023), 7 сутки – в 2,0 раза (p<0,001), 46% (p=0,003), в 2,0 раза (p<0,001), 10 сутки – на 40% (p=0,010), в 1,9 раза (p<0,001), 46% (p=0,014) (табл. 19).

Таблица 19

**Кинетические показатели глутатионредуктазы в субклеточных фракциях органов крыс с комбинированной термической травмой**

Орган	Субклеточная фракция	Кинетический показатель	здоровые животные	животные с КТТ		
				1 сутки	7 сутки	10 сутки
Печень	Гомогенат	Kt, мин	2,16±0,08	4,22±0,08*	3,78±0,12**/**	4,13±0,10**/**
		Vmax, мкмоль/мин	10,36±0,13	4,87±0,20*	5,61±0,10**/**	5,02±0,09**/**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	4,79±0,10	1,15±0,07*	1,48±0,07**/**	1,22±0,06**/**
	Цитоплазматическая фракция	Kt, мин	1,96±0,07	3,52±0,11*	4,16±0,08**/**	3,84±0,21*
		Vmax, мкмоль/мин	8,42±0,11	5,05±0,14*	4,21±0,10**/**	4,32±0,07**/**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	4,29±0,14	1,44±0,09*	1,01±0,02**/**	1,13±0,04**/**
	Митохондриальная фракция	Kt, мин	1,64±0,06	3,06±0,05*	2,75±0,11**/**	3,18±0,10**/**
		Vmax, мкмоль/мин	8,26±0,15	4,10±0,09*	4,36±0,15*	3,84±0,13**/**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	5,04±0,09	1,34±0,05*	1,59±0,04**/**	1,21±0,08**/**
Почки	Гомогенат	Kt, мин	3,06±0,05	3,10±0,09	3,02±0,08	3,00±0,07
		Vmax, мкмоль/мин	11,04±0,07	6,13±0,11*	5,56±0,22**/**	6,47±0,16**/**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	3,61±0,11	1,98±0,07*	1,84±0,13*	2,16±0,02**/**
	цитоплазматическая фракция	Kt, мин	2,52±0,06	2,49±0,13	2,50±0,11	2,55±0,05
		Vmax, мкмоль/мин	9,43±0,22	5,36±0,20*	5,04±0,05*	4,90±0,07**/**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	3,74±0,12	2,15±0,08*	2,02±0,03*	1,92±0,07*
	Митохондриальная фракция	Kt, мин	1,73±0,05	1,69±0,08	1,74±0,08	1,77±0,07
		Vmax, мкмоль/мин	10,65±0,27	6,43±0,12*	5,47±0,13**/**	5,88±0,13**/**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	6,16±0,14	3,80±0,13*	3,14±0,07**/**	3,32±0,11**/**
Сердце	Гомогенат	Kt, мин	1,90±0,09	5,06±0,09*	4,87±0,15*	4,85±0,14*
		Vmax, мкмоль/мин	12,04±0,10	6,23±0,11*	6,45±0,13*	8,02±0,09 */**/**

		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	6,34±0,11	1,23±0,17*	1,32±0,07*	1,65±0,07 */**/**
цитоплазматическая фракция	Гомогенат	Kt, мин	1,04±0,03	2,24±0,10*	1,67±0,09*/**	1,53±0,06*/**
		Vmax, мкмоль/мин	12,02±0,09	5,04±0,08*	5,22±0,10*	5,48±0,20*/**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	11,56±0,12	2,25±0,13*	3,13±0,07*/**	3,58±0,12 */**/**
	Митохондриальная фракция	Kt, мин	1,12±0,07	3,17±0,08*	3,99±0,14*/**	2,06±0,05 */**/**
		Vmax, мкмоль/мин	9,96±0,20	4,78±0,17*	4,56±0,06*	4,91±0,18*
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	8,89±0,14	1,51±0,09*	1,14±0,07*/**	2,38±0,11 */**/**
Легкие	Гомогенат	Kt, мин	2,38±0,06	4,15±0,10*	4,14±0,11*	3,92±0,10*
		Vmax, мкмоль/мин	8,69±0,22	4,45±0,20*	4,60±0,18*	4,83±0,15*
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	3,65±0,10	1,07±0,03*	1,11±0,04*	1,23±0,04*
	цитоплазматическая фракция	Kt, мин	1,67±0,06	3,53±0,08*	3,14±0,10*/**	3,05±0,04*/**
		Vmax, мкмоль/мин	7,53±0,12	3,61±0,12*	3,73±0,12*	3,90±0,08*
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	4,51±0,10	1,02±0,04*	1,19±0,07*	1,28±0,04*/**
	Митохондриальная фракция	Kt, мин	1,42±0,08	2,67±0,11*	2,55±0,13*	2,53±0,10*
		Vmax, мкмоль/мин	6,89±0,10	3,28±0,07*	3,61±0,15*/**	3,80±0,07*/**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	4,85±0,12	1,23±0,05*	1,42±0,06*	1,50±0,03*/**

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ); \*\*\* - различия статистически значимы по сравнению с 7 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ).

При КТТ (1, 7, 10 сутки) для реакции, катализируемой Гл-6-фДГ, характерно снижение Vmax, Vmax/Kt в гомогенате, цитозоле и митохондриях печени, почек, сердца, легких. В печени и легких крыс с КТТ выявлено уменьшение Kt Гл-6-фДГ (табл. 20).

Таблица 20

### Кинетические показатели глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в субклеточных фракциях органов крыс с комбинированной термической травмой

Орган	Субклеточная фракция	Кинетический показатель	здоровые животные	животные с КТТ		
				1 сутки	7 сутки	10 сутки
Печень	Гомогенат	Kt, мин	0,45±0,03	0,28±0,02*	0,25±0,04*	0,30±0,02*
		Vmax, мкмоль/мин	8,46±0,20	4,50±0,07*	4,38±0,10*	4,77±0,06*
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	18,80±0,07	16,07±0,09*	17,52±0,24*/**	15,90±0,23*
	Цитоплазматическая фракция	Kt, мин	0,32±0,03	0,22±0,02*	0,25±0,02	0,26±0,03
		Vmax, мкмоль/мин	7,85±0,12	4,03±0,08*	4,26±0,13*	4,55±0,12*/**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	24,53±0,61	18,32±0,21*	17,04±0,11*/**	17,50±0,11 */**/**
	Митохондриальная фракция	Kt, мин	0,28±0,03	0,15±0,02*	0,17±0,02*	0,18±0,02*
		Vmax, мкмоль/мин	7,62±0,17	4,01±0,13*	4,12±0,10*	4,17±0,08*
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	27,21±0,15	26,73±0,11	24,24±0,21*/**	23,17±0,15*/**/ ***

Почки	Гомогенат	Kt, мин	0,64±0,04	0,65±0,04	0,67±0,05	0,59±0,04
		Vmax, мкмоль/мин	6,68±0,14	3,66±0,10*	3,10±0,07*/**	3,97±0,13*/***
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	10,44±0,20	5,63±0,12*	4,63±0,10*/**	6,73±0,20*/**/*
	цитоплазматическая фракция	Kt, мин	0,55±0,04	0,56±0,04	0,57±0,01	0,51±0,04
		Vmax, мкмоль/мин	6,39±0,12	3,41±0,09*	3,65±0,10*	3,62±0,15*
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	11,62±0,09	6,09±0,13*	6,40±0,22*	7,09±0,11*/**/*
	Митохондриальная фракция	Kt, мин	0,61±0,03	0,59±0,05	0,62±0,03	0,62±0,04
		Vmax, мкмоль/мин	5,47±0,13	2,78±0,10*	2,85±0,14*	3,02±0,08*
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	8,97±0,21	4,71±0,12*	4,60±0,23*	4,87±0,11*
Сердце	Гомогенат	Kt, мин	0,58±0,03	0,58±0,06	0,60±0,05	0,55±0,03
		Vmax, мкмоль/мин	7,42±0,11	2,05±0,05*	3,86±0,10*/**	3,89±0,24*/**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	12,79±0,20	3,53±0,10*	6,43±0,12*/**	7,07±0,09*/**/*
	цитоплазматическая фракция	Kt, мин	0,44±0,03	0,41±0,04	0,44±0,03	0,45±0,02
		Vmax, мкмоль/мин	4,83±0,12	2,64±0,11*	2,56±0,07*	2,87±0,15*/**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	10,98±0,23	6,44±0,13*	5,82±0,11*/**	6,38±0,21*/**
	Митохондриальная фракция	Kt, мин	0,38±0,02	0,41±0,03	0,35±0,03	0,42±0,03
		Vmax, мкмоль/мин	5,52±0,11	2,64±0,11*	2,65±0,14*	3,02±0,13*
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	14,53±0,30	6,44±0,13*	7,57±0,21*/**	7,19±0,14*/**
Легкие	Гомогенат	Kt, мин	0,82±0,04	0,60±0,04*	0,65±0,04*	0,72±0,04
		Vmax, мкмоль/мин	8,92±0,14	4,38±0,15*	4,40±0,13*	4,55±0,17*
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	10,88±0,22	7,30±0,16*	6,77±0,21*/**	6,32±0,16*/**
	цитоплазматическая фракция	Kt, мин	0,72±0,04	0,57±0,02*	0,59±0,04	0,64±0,04
		Vmax, мкмоль/мин	6,47±0,13	3,10±0,09*	3,38±0,15*	3,47±0,22*
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	8,99±0,23	5,44±0,17*	5,73±0,14*	5,42±0,16*
	Митохондриальная фракция	Kt, мин	0,57±0,02	0,53±0,03	0,49±0,03	0,46±0,02*
		Vmax, мкмоль/мин	5,93±0,11	2,68±0,14*	2,75±0,10*	2,75±0,13*
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	10,40±0,18	5,06±0,08*	5,55±0,14*/**	5,93±0,21*/**

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ); \*\*\* - различия статистически значимы по сравнению с 7 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ).

Максимальное снижение ОАА при КТТ отмечено в печени, почках и легких на 1 сутки. Удельная активность СОД максимально снизилась в печени и легких на 1 сутки после КТТ, в почках – на 7 сутки, в сердце – на 10 сутки. Наибольшее ингибирование каталазы отмечено на 1 сутки после КТТ во всех паренхиматозных органах. Удельная активность ГР и Гл-6-фДГ

максимально уменьшилась в почках на 7 сутки после КТТ, в печени, сердце и легких – на 1 сутки. Следует учесть, что в процессе выведения экзогенных окислителей, свободных радикалов и радикальных форм АО участвуют системы естественной детоксикации совокупности органов и тканей [71].

Согласно данным литературы, ожог у крыс вызывает повышение содержания продуктов ПОЛ и снижение активности ферментов АОС в ожоговой ране [200]. Показано, что при термическом ожоге максимальная интенсивность ПОЛ наблюдалась через 1 час после травмы [298]. Согласно полученным результатам КТТ сопровождалась нарушением процессов пероксидации в тканях крыс. При этом СРО раньше всего начиналось в тканях легких на фоне низкого содержания ферментов АОС. Характеристика типов ингибирования ферментов АОС приведена в таблице 21.

Таблица 21

Характеристика типов ингибирования ферментов антиоксидантной защиты при комбинированной термической травме

Ткань		Тип ингибирования			
		СОД	Каталаза	ГР	Гл-6-фДГ
кровь		Двухпараметрически согласованное	Двухпараметрически согласованное	Каталитическое	Каталитическое
печень	гомогенат	Двухпараметрически согласованное	Ассоциативное	Двухпараметрически согласованное	Двухпараметрически рассогласованное
	цитозоль	Двухпараметрически согласованное	Ассоциативное	Двухпараметрически согласованное	Двухпараметрически рассогласованное
	митохондрии	Двухпараметрически согласованное	Ассоциативное	Двухпараметрически согласованное	Двухпараметрически рассогласованное
почки	гомогенат	Каталитическое	Ассоциативное	Каталитическое	Каталитическое
	цитозоль	Каталитическое	Ассоциативное	Каталитическое	Каталитическое
	митохондрии	Каталитическое	Ассоциативное	Каталитическое	Каталитическое
сердце	гомогенат	Каталитическое	Двухпараметрически согласованное	Двухпараметрически согласованное	Каталитическое
	цитозоль	Каталитическое	Двухпараметрически согласованное	Двухпараметрически согласованное	Каталитическое
	митохондрии	Каталитическое	Двухпараметрически согласованное	Двухпараметрически согласованное	Каталитическое
легкие	гомогенат	Двухпараметрически согласованное	Ассоциативное	Двухпараметрически согласованное	Двухпараметрически рассогласованное
	цитозоль	Двухпараметрически согласованное	Ассоциативное	Двухпараметрически согласованное	Двухпараметрически рассогласованное
	митохондрии	Двухпараметрически согласованное	Ассоциативное	Двухпараметрически согласованное	Двухпараметрически рассогласованное

Наблюдаемое в работе усиление перекисных процессов на фоне угнетения АОС при КТТ свидетельствовало о развитии ОС и КС в связи с тем, что организм не успел включиться в адаптационный процесс. Полученные результаты подтвердили данные литературы о нарушении прооксидантно-антиоксидантного равновесия при ТТ [220; 299; 577]. При

этом выявлен комплексный механизм формирования ОС при КТТ, подразумевающий как активацию СРО, так и снижение общего и ферментативного антиокислительного потенциала с нарушением баланса в функционировании про- и антиоксидантных систем организма, приводящего к развитию системных нарушений при ожоге. В литературе также имеются данные об усилении процессов СРО липидов и белков у больных с ТТ с одновременным угнетением АОС [200]. Это приводит к гиперпродукции АФК, мишенью действия которых являются различные клетки и клеточные структуры, в результате усиливаются деструктивные процессы, что может являться патогенетическим фактором ОБ [323; 424; 429]. Следовательно, причинами ОС при КТТ могут быть, с одной стороны, чрезмерная продукция АФК, с другой – активация СРО и негативный ответ резервов АОС. Известно, что при ТТ возникают благоприятные патофизиологические и биохимические условия для ускорения процессов СРО: гипоксия, активация клеток воспаления и гемостаза, усиление липолиза и повышение уровня в крови жирных кислот [145], нарушение липидного и белкового профиля митохондрий при ТТ [431]. В свою очередь активация СРО в митохондриях при ожоге может быть одной из причин повреждения тканей органов.

### **3.1.3. Состояние дыхательной цепи митохондрий при экспериментальной комбинированной термической травме**

Митохондрии – это индикаторы функционального состояния клеток. Производимая ими энергия накапливается внутри молекул АТФ в результате кислород-зависимых свободнорадикальных реакций, связанных с окислением восстановленных веществ в дыхательной цепи митохондрий [11; 571; 640]. Таким образом, от структурно-функциональных особенностей митохондрий зависит возникновение и развитие патологических процессов при ОБ, как на уровне клетки, так и организма в целом [270; 571; 616; 642]. Показано снижение удельной активности СДГ (МФК II) после КТТ по сравнению с показателями здоровых крыс в митохондриях печени, почек, сердца и легких на 1 сутки в 2,6 раза ( $p < 0,001$ ), 9,3 раза ( $p < 0,001$ ), 5,4 раза

( $p < 0,001$ ), 4,8 раза ( $p < 0,001$ ), 7 сутки – в 2,3 раза ( $p < 0,001$ ), 2,4 раза ( $p < 0,001$ ), 3,4 раза ( $p < 0,001$ ), 3,9 раза ( $p < 0,001$ ), 10 сутки в 2,1 раза ( $p < 0,001$ ), 2,1 раза ( $p < 0,001$ ), 2,9 раза ( $p < 0,001$ ) и в 3,4 раза ( $p < 0,001$ ) соответственно (табл. 22). Эти данные свидетельствуют о снижении сукцинатзависимого дыхания в митохондриях и уменьшении активности цикла лимонной кислоты при КТТ. При этом СДГ связана с цепью переноса электронов, и в отличие от других ферментов цикла Кребса является интегральным белком внутренней мембраны митохондрий. Специфическими активаторами СДГ выступают АТФ и восстановленный убихинон, который в митохондриях играет роль акцептора электронов от сукцинатдегидрогеназного комплекса (в котором СДГ является первым ферментом, а цитохромоксидаза – последним) [102].

Снижение активности СДГ в условиях недостатка  $O_2$ , развивающегося в клетках при ТТ [893], вероятно, обусловлено активацией фумаратредуктазной реакции, обратной той, которую катализирует СДГ. В ходе этой реакции формируются свободные радикалы кислорода, способные инактивировать СДГ [768]. По данным гистохимии также показано, что в 1-ые сутки после обширных глубоких ожогов в миоцитах активность СДГ уменьшается, свидетельствуя о подавлении функций митохондрий [69; 133].

Цитохром *c* также рассматривается, как возможный генератор АФК особенно в патофизиологических условиях [750]. Выявлено уменьшение удельной активности цитохром *c* оксидазы (МФК IV) после КТТ по сравнению с показателям здоровых крыс в митохондриях печени, почек, сердца и легких на 1 сутки в 3,9 раза ( $p < 0,001$ ), на 47% ( $p < 0,001$ ), в 3,9 раза ( $p < 0,001$ ), на 47% ( $p = 0,005$ ), 7 сутки – в 2,9 раза ( $p < 0,001$ ), на 39% ( $p = 0,014$ ), в 2,9 раза ( $p < 0,001$ ), на 37% ( $p = 0,018$ ), 10 сутки – на 49% ( $p < 0,001$ ), 39% ( $p = 0,020$ ), 48% ( $p < 0,001$ ), 18% ( $p = 0,039$ ) соответственно (табл. 22). Вероятно, большое количество АФК, образующееся при ТТ, связывается с атомами металлов, находящихся в составе цитохром *c* оксидазы, ингибируя работу фермента. Согласно данным литературы, сведения о состоянии дыхательной цепи при ОБ противоречивы. Некоторые авторы утверждают, что компоненты

дыхательной цепи при патологии повреждаются, следствием чего является снижение синтеза АТФ [611], однако детальные исследования механизмов этих нарушений не проведены. По мнению других авторов компоненты дыхательной цепи изменяют свою функциональную активность [59; 878].

Таблица 22

Удельная активность сукцинатдегидрогеназы, цитохром *c* оксидазы в митохондриях органов крыс с комбинированной термической травмой

Орган	Условия эксперимента	СДГ, мкмоль/л×мин×мг белка	Цитохром- <i>c</i> -оксидаза, ммоль/л×мин×мг белка
Печень	Здоровые крысы	518,016±15,337	582,071±11,124
	КТТ, 1 сутки	200,670±8,045*	147,122±6,869*
	КТТ, 7 сутки	227,085±7,112*/**	199,055±8,317*/**
	КТТ, 10 сутки	251,00±9,346*/**	299,409±10,256*/**/**
Почки	Здоровые крысы	187,898±10,275	197,647±8,522
	КТТ, 1 сутки	20,244±1,032*	105,331±7,274*
	КТТ, 7 сутки	78,415±3,186*/**	119,665±10,042*
	КТТ, 10 сутки	88,500±3,994*/**	121,003±6,759*
Сердце	Здоровые крысы	214,179±10,068	210,243±8,765
	КТТ, 1 сутки	39,317±2,005*	54,581±2,477*
	КТТ, 7 сутки	62,590±3,470*/**	71,206±2,896*/**
	КТТ, 10 сутки	71,722±3,369*/**	109,163±4,105*/**/**
Легкие	Здоровые крысы	92,828±3,244	674,880±13,704
	КТТ, 1 сутки	19,473±1,012*	359,500±10,256*
	КТТ, 7 сутки	23,933±1,311*	422,541±12,473*/**
	КТТ, 10 сутки	27,357±2,046*	551,672±14,005*/**/**

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ); \*\*\* - различия статистически значимы по сравнению с 7 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ).

Полученные результаты уменьшения активности СДГ и цитохром *c* оксидазы, наиболее выраженные на 1 сутки после КТТ, свидетельствуют о снижении в клетке аэробного и усилении анаэробного окисления, об уменьшении энергетического обеспечения клетки в результате нарушения работы электронного транспорта в мембране митохондрий и, как следствия, недостаточного производства АТФ. Эти данные позволяют судить о сдвигах энергетического обмена, происходящих при гипоксии, развивающейся при ОБ, и расширяют представления о патогенетических механизмах гипоксии при ожоге с последующей возможностью поиска способов ее коррекции.

Ингибирование удельной активности СДГ в митохондриях печени, почек, сердца и легких при КТТ обусловлено повышением  $K_t$ , снижением  $V_{max}$  и  $V_{max}/K_t$  (табл. 23). Следовательно, снижение удельной активности

СДГ в митохондриях печени, почек, сердца и легких при КТТ происходило по типу двухпараметрически согласованного ингибирования [184].

Таблица 23

Кинетические показатели сукцинатдегидрогеназы в митохондриях органов крыс с комбинированной термической травмой

Орган	Кинетический показатель	здоровые животные	животные с КТТ		
			1 сутки	7 сутки	10 сутки
Печень	Kt, мин	1,75±0,07	4,02±0,12*	3,67±0,21*	3,18±0,11*/**
	V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	10,08±0,34	5,89±0,08*	6,54±0,14*/**	6,32±0,20*
	V <sub>max</sub> /Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	5,76±0,22	1,47±0,06*	1,78±0,10*	1,99±0,07*/**
Почки	Kt, мин	1,13±0,05	3,48±0,13*	3,21±0,05*	2,95±0,11*/**
	V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	9,76±0,21	4,51±0,17*	5,07±0,14*	5,33±0,18*/**
	V <sub>max</sub> /Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	8,64±0,19	1,30±0,07*	1,58±0,09*	1,81±0,06*/**
Сердце	Kt, мин	2,03±0,08	3,96±0,12*	3,85±0,05*	3,81±0,10*
	V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	10,55±0,19	6,25±0,17*	6,31±0,18*	7,24±0,21*/**/**
	V <sub>max</sub> /Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	5,20±0,13	1,58±0,08*	1,64±0,04*	1,90±0,07*/**
легкие	Kt, мин	1,44±0,11	3,36±0,09*	3,22±0,10*	2,97±0,06*/**
	V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	11,02±0,23	7,58±0,15*	7,66±0,09*	8,03±0,14*
	V <sub>max</sub> /Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	7,65±0,16	2,26±0,07*	2,38±0,06*	2,70±0,05*/**/**

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами (p<0,05); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ (p<0,05); \*\*\* - различия статистически значимы по сравнению с 7 сутками КТТ (p<0,05).

Снижение удельной активности цитохром с оксидазы в митохондриях органов при КТТ также обусловлено повышением Kt и падением V<sub>max</sub>/Kt. В митохондриях почек, сердца и легких крыс с КТТ выявлено уменьшение V<sub>max</sub> цитохром с оксидазы (табл. 24). Таким образом, снижение удельной активности цитохром с оксидазы в митохондриях почек, сердца и легких при КТТ происходило по типу двухпараметрически согласованного ингибирования, в митохондриях печени – по типу ассоциативного [184].

Таблица 24

Кинетические показатели цитохром с оксидазы в митохондриях органов крыс с комбинированной термической травмой

Орган	Кинетический показатель	здоровые животные	животные с КТТ		
			1 сутки	7 сутки	10 сутки
Печень	Kt, мин	0,51±0,05	1,93±0,11*	1,46±0,07*/**	1,28±0,09*/**
	V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	6,98±0,16	6,79±0,20	6,85±0,08	7,02±0,13
	V <sub>max</sub> /Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	13,69±0,14	3,52±0,09*	4,69±0,10*/**	5,48±0,14*/**/**
Почки	Kt, мин	0,82±0,04	1,78±0,12*	1,72±0,06*	1,54±0,08*
	V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	9,05±0,16	4,63±0,11*	6,04±0,07*/**	6,19±0,17*/**
	V <sub>max</sub> /Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	11,04±0,22	2,60±0,05*	3,72±0,14*/**	4,02±0,16*/**
Сердце	Kt, мин	0,59±0,03	1,65±0,13*	1,63±0,12*	1,44±0,07*
	V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	5,34±0,09	2,71±0,11*	2,89±0,08*	3,65±0,10*/**/**
	V <sub>max</sub> /Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	9,05±0,23	1,64±0,07*	1,77±0,13*	2,53±0,09*/**/**
легкие	Kt, мин	0,64±0,06	2,03±0,09*	1,97±0,07*	1,95±0,14*
	V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	7,82±0,15	3,79±0,05*	4,04±0,10*	4,18±0,06*/**
	V <sub>max</sub> /Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	12,22±0,31	1,87±0,08*	2,05±0,03*	2,14±0,05*

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ); \*\*\* - различия статистически значимы по сравнению с 7 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, выявлено снижение удельной активности СДГ и цитохром *c* оксидазы в митохондриях органов на 1, 7 и 10 сутки после КТТ. Органы в порядке уменьшения удельной активности СДГ при КТТ располагались: на 1 сутки – почки > сердце > легкие > печень, на 7 сутки – легкие > сердце > почки > печень, на 10 сутки – легкие > сердце > печень, почки. Органы в порядке уменьшения удельной активности цитохром *c* оксидазы при КТТ располагались: на 1 сутки – печень, сердце > легкие, почки, на 7 и 10 сутки – сердце, печень > почки > легкие. Наиболее выраженное снижение активности СДГ и цитохром *c* оксидазы отмечено на 1 сутки после ожога. Следовательно, определение активности СДГ и цитохром *c* оксидазы может быть использовано в качестве маркеров метаболических нарушений при гипоксии, обусловленной КТТ. Исследование метаболического состояния митохондрий органов крыс с КТТ может помочь в разработке адекватной тактики лечения ОБ.

Активация ПОЛ вызывает повреждение клеток и тканей. При КТТ токсичные продукты СРО приводят к набуханию митохондрий и разобщению окислительного фосфорилирования, ингибируют ферменты дыхания и гликолиза, нарушают синтез АТФ в клетках [299; 355; 612].

#### **3.1.4. Содержание глюкозы и лактата в крови крыс с ожогом**

В плазме крови крыс с КТТ выявлен рост концентрации глюкозы на 1, 7 и 10 сутки на 39% ( $p = 0,023$ ), 79% ( $p = 0,015$ ), 23% ( $p = 0,031$ ). В эритроцитах более выражено увеличение уровня глюкозы на 1 сутки после КТТ в 2,2 раза ( $p < 0,001$ ), 7 сутки – в 2,2 раза ( $p < 0,001$ ), 10 сутки – на 81% ( $p = 0,005$ ) по сравнению с показателями здоровых крыс (табл. 25). Установленная гипергликемия может быть следствием активации процессов гликолиза, глюконеогенеза, гликогенолиза и обусловлена ингибированием глицеральдегидфосфатдегидрогеназы. Уменьшение распада глюкозы может вызвать рост молочной кислоты, продукта анаэробного метаболизма глюкозы

[355]. При достаточном поступлении  $O_2$  пируват подвергается метаболизму в митохондриях до воды и углекислоты. В анаэробных условиях пируват преобразуется в лактат под действием ЛДГ [476].

Отмечен рост концентрации лактата в плазме на 1 и 7 сутки после КТТ на 10% ( $p=0,036$ ) и 27% ( $p=0,028$ ) по сравнению показателями здоровых животных. В эритроцитах при КТТ содержание лактата увеличилось на 1, 7 и 10 сутки на 58% ( $p=0,022$ ), в 2,08 раза ( $p<0,001$ ), на 88% ( $p=0,010$ ) соответственно (табл. 25). Максимальное увеличение глюкозы и лактата происходило в эритроцитах на 7 сутки после КТТ. Известно, что посттравматическое повреждение тканей сопровождается изменениями в метаболизме углеводов. Периферические ткани выбрасывают большие количества лактата в системный кровоток для синтеза глюкозы в печени. Концентрация лактата в крови характеризует недостаточность поступления  $O_2$  к тканям [259; 430]. В условиях гипоксии клетка интенсивно расходует глюкозу с образованием лактата и поддерживает энергетические потребности за счет активации процессов анаэробного гликолиза [179], компенсирующего нехватку АТФ [400; 423]. При этом усиливается ацидоз, вызывая повреждение мембран клеток, сопровождающееся инициацией ПОЛ [258].

Таблица 25

Концентрация лактата и глюкозы в крови крыс с комбинированной термической травмой

Условия эксперимента	Лактат, ммоль/л		Глюкоза, ммоль/л	
	плазма	эритроциты	Плазма	эритроциты
Здоровые крысы	2,786±0,035	0,958±0,007	8,715±0,027	0,982±0,012
КТТ, 1 сутки	3,069±0,024*	1,512±0,009*	12,143±0,054*	2,153±0,009*
КТТ, 7 сутки	3,540±0,016*/**	1,990±0,011*/**	15,561±0,032*/**	2,144±0,010*
КТТ, 10 сутки	2,741±0,018**/**	1,805±0,008**/**	10,727±0,018**/**	1,779±0,007**/**

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p<0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ ( $p<0,05$ ); \*\*\* - различия статистически значимы по сравнению с 7 сутками КТТ ( $p<0,05$ ).

Согласно данным литературы, глюкоза и лактат растут при ожоге в сыворотке и сердце через час после поражения в остром периоде тяжелой ТТ, что приводит к снижению рН до  $7,16±0,05$  и метаболическому ацидозу, играющему наряду с активацией симпатoadренальной системы важную патогенетическую значимость в формировании ожоговой кардиодепрессии

[73]. Как известно, активация симпатoadреналовой системы и увеличение содержания катехоламинов в крови сопровождается гипергликемией [74], а катехоламины в высоких концентрациях оказывают кардиотоксический эффект, проявляющийся аритмиями и снижением сократимости миокарда. A. Mokline et al. [708] считают, что лактат может выступать в качестве прогностического маркера гипоксии при ТТ. Таким образом, у крыс с КТТ выявлены нарушения в углеводном метаболизме, проявляющиеся в гипергликемии и активации анаэробного гликолиза, приводящего к повышению лактата в крови. Избыток лактата вследствие тканевой гипоксии зависит от соотношения НАДН/НАД в клетке, которое определяется активностью и направленностью ЛДГ [355].

### 3.1.5. Активность и кинетические свойства лактатдегидрогеназы в крови и органах крыс с ожогом

В работе показано, что основная активность ЛДГпр у здоровых животных обнаружена в цитозоле печени (68% суммарной активности) [352], почек (59%), легких (64%), сердца (81%) (рис. 26). Внутриклеточное распределение общей активности ЛДГпр у животных с КТТ аналогично распределению активности фермента в органах здоровых крыс (рис. 27-29) на фоне более низкой общей активности во всех фракциях органов (табл. 26). Полученные результаты распределения общей активности ЛДГпр в норме и на 7, 10 сутки после КТТ в гомогенате органов соответствовали данным литературы [580; 860], которая располагалась в порядке ее уменьшения: почки > сердце > печень > легкие. На 1 сутки после КТТ общая активность ЛДГпр располагалась в порядке ее уменьшения: почки > печень > сердце > легкие (табл. 26), что может быть связано с нарушением кровообращения и недостаточностью снабжения кислородом организма, которые регистрируются при всех видах ожоговых повреждений [177].

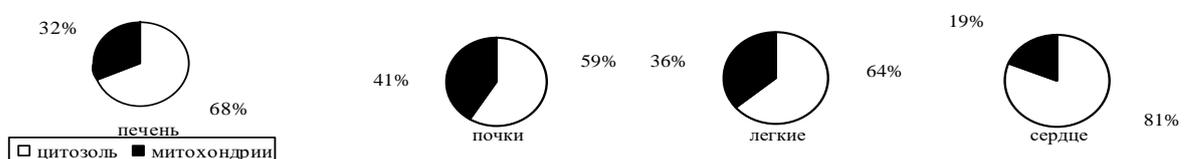


Рис. 26. Общая активность ЛДГпр (мкмоль НАДН/мин×г ткани) в субклеточных фракциях органов здоровых крыс

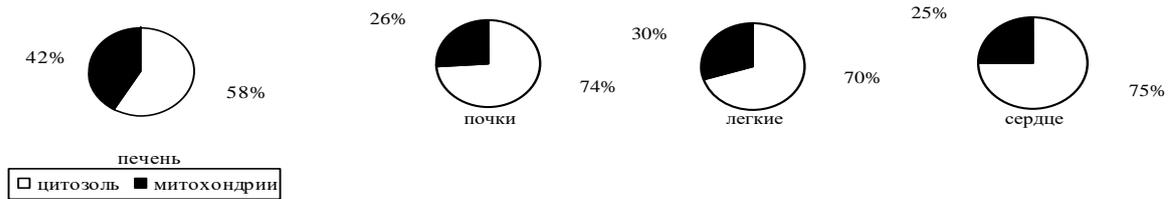


Рис. 27. Общая активность ЛДГпр (мкмоль НАДН/мин×г ткани) в субклеточных фракциях органов крыс с КТТ (1 сутки)

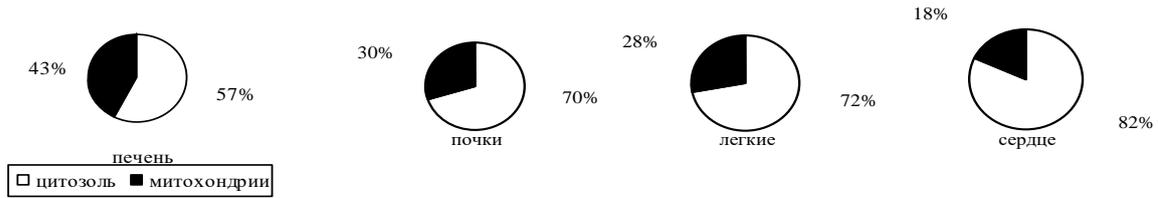


Рис. 28. Общая активность ЛДГпр (мкмоль НАДН/мин×г ткани) в субклеточных фракциях органов крыс с КТТ (7 сутки)

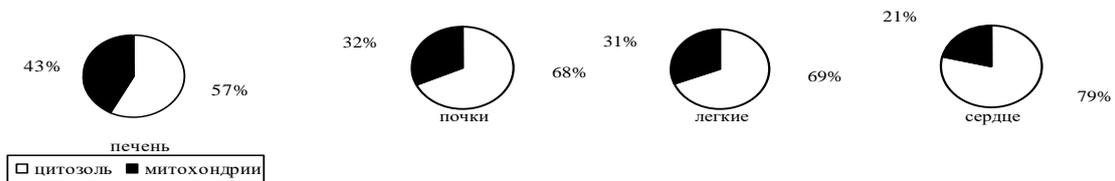


Рис. 29. Общая активность ЛДГпр (мкмоль НАДН/мин×г ткани) в субклеточных фракциях органов крыс с КТТ (10 сутки)

Таблица 26

Распределение общей активности ЛДГпр (мкмоль НАДН/мин×г ткани) в гомогенате органов у крыс с комбинированной термической травмой

Условия эксперимента	печень	почки	легкие	сердце
Здоровые крысы	43,438±1,005	71,279±1,123	12,943±0,731	49,196±1,031
КТТ, 1 сутки	33,011±0,854*	41,132±0,465*	9,051±0,362*	32,046±0,207*
КТТ, 7 сутки	35,370±0,343*/**	57,012±0,718*/**	9,228±0,115*/**	40,030±0,185*/**
КТТ, 10 сутки	36,475±0,224 */**/**	67,321±0,552 */**/**	10,021±0,314 */**/**	40,291±0,274 */**

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами (p<0,05); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ (p<0,05); \*\*\* - различия статистически значимы по сравнению с 7 сутками КТТ (p<0,05).

Основная активность ЛДГобр у здоровых животных (рис. 30) и крыс с КТТ (рис. 31, 32, 33) обнаружена в цитоплазматической фракции органов.

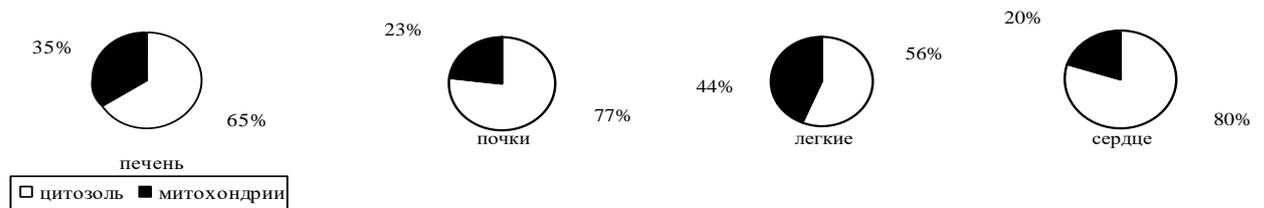


Рис. 30. Общая активность ЛДГобр (мкмоль НАДН/мин×г ткани) в субклеточных фракциях органов здоровых крыс

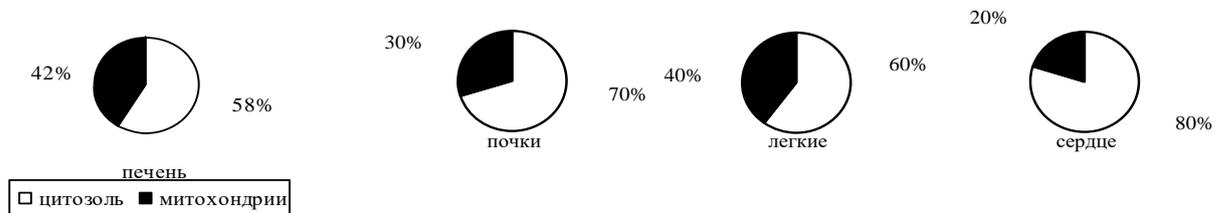


Рис. 31. Общая активность ЛДГобр (мкмоль НАДН/мин×г ткани) в субклеточных фракциях органов крыс с КТТ (1 сутки)

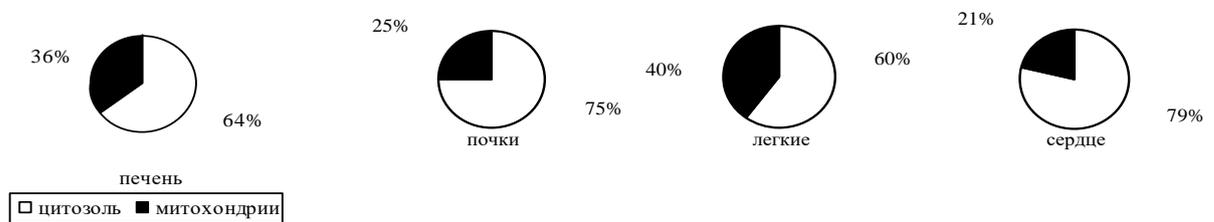


Рис. 32. Общая активность ЛДГобр (мкмоль НАДН/мин×г ткани) в субклеточных фракциях органов крыс с КТТ (7 сутки)

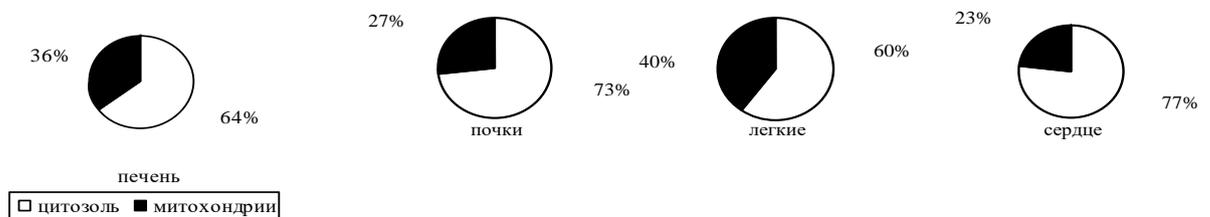


Рис. 33. Общая активность ЛДГобр (мкмоль НАДН/мин×г ткани) в субклеточных фракциях органов крыс с КТТ (10 сутки)

Выявлено снижение общей активности ЛДГобр в гомогенате органов после КТТ по сравнению с показателями здоровых крыс (табл. 27). Полученные результаты распределения общей активности ЛДГобр в норме, на 1, 10 сутки после КТТ в гомогенате органов соответствовали данным литературы [580; 860], которая располагалась в порядке ее уменьшения: почки > сердце > печень > легкие. На 7 сутки после КТТ общая активность ЛДГобр располагалась: почки > печень > сердце > легкие. ЛДГ участвует в регуляции энергетического метаболизма, при этом в прямой реакции из

молочной кислоты образуется пировиноградная, утилизируемая в аэробных условиях в цикле Кребса. Обратная реакция ЛДГ отражает анаэробные процессы в клетке [292; 356]. Изменение активности ЛДГ в крови диагностируется при различных патологических процессах, которые сопровождаются разрушением клеток, например, инфаркт миокарда, заболевания кровеносной системы и скелетных мышц, а также при обширных ожоговых повреждениях [177].

Выявлено снижение активности ЛДГпр в эритроцитах крови крыс с КТТ на 1, 7, 10 сутки в 2,9 раза ( $p < 0,001$ ), в 2,2 раза ( $p < 0,001$ ), на 38% ( $p = 0,023$ ) по сравнению с показателем здоровых животных (табл. 28). Удельная активность ЛДГобр в эритроцитах уменьшилась после КТТ на 1, 7, 10 сутки на 43% ( $p = 0,015$ ), 40% ( $p = 0,017$ ), 27% ( $p = 0,021$ ) соответственно. По сравнению с показателями здоровых животных удельная активность ЛДГпр, ЛДГобр уменьшилась после КТТ в гомогенате, цитозоле и митохондриях печени, почек, сердца, легких на 1, 7, 10 сутки (табл. 28). Уменьшение удельной активности ЛДГпр при КТТ вызывает накопление лактата и обусловлено, вероятно, развитием тканевой гипоксии, преобладанием анаэробного обмена веществ, изменением рН, так как при ТТ происходит нарушение кислотно-щелочного равновесия из-за уменьшения легочной вентиляции и роста напряжения углекислого газа в крови [279; 356].

Таблица 27

Распределение общей активности ЛДГобр (мкмоль НАДН/мин×г ткани) в гомогенате органов у крыс с комбинированной термической травмой

Условия эксперимента	печень	почки	легкие	сердце
Здоровые крысы	55,842±0,202	87,028±0,135	27,161±0,150	64,064±0,083
КТТ, 1 сутки	37,850±0,169*	59,869±0,274*	15,562±0,132*	40,273±0,106*
КТТ, 7 сутки	45,042±0,097**/**	70,390±0,303**/**	16,980±0,075**/**	44,793±0,124**/**
КТТ, 10 сутки	50,309±0,185**/**/**	71,288±0,155**/**	17,511±0,089**/**/**	53,696±0,203**/**/**

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ); \*\*\* - различия статистически значимы по сравнению с 7 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ).

Таблица 28

Удельная активность лактатдегидрогеназы (нмоль НАДН/мин×мг белка) и коэффициент баланса энергетических реакций в крови и органах крыс с комбинированной термической травмой

Объект исследования		Условия эксперимента	ЛДГ пр, нмоль НАДН/мин× мг белка	ЛДГобр, нмоль НАДН/мин× мг белка	КБЭР
Кровь		Здоровые крысы	42,772±1,265	174,179±4,368	6,041±0,247
		КТТ, 1 сутки	14,664±1,004*	99,635±1,579*	2,163±0,088*
		КТТ, 7 сутки	19,708±0,971*	104,960±3,684*	3,529±0,109*/**
		КТТ, 10 сутки	26,513±1,380*/**	126,660±5,172*/**	4,375±0,226*/**
Печень	гомогенат	Здоровые крысы	245,098±7,854	310,731±2,538	62,224±1,108
		КТТ, 1 сутки	77,383±2,062*	243,040±1,674*	10,124±0,249*
		КТТ, 7 сутки	106,170±2,557*/**	261,111±3,258*/**	16,551±0,276*/**
		КТТ, 10 сутки	124,613±1,948*/**/**	279,257±3,079*/**	19,902±0,115*/**
	цитоплазматическая фракция	Здоровые крысы	351,808±6,007	637,948±12,156	30,392±0,547
		КТТ, 1 сутки	128,663±2,435*	496,928±8,332*	6,706±0,113*
		КТТ, 7 сутки	176,282±3,271*/**	508,200±7,167*	12,036±0,246*/**
		КТТ, 10 сутки	227,657±8,336*/**/**	545,955±10,081*/**	17,389±0,187*/**
	митохондрии	Здоровые крысы	137,195±4,962	531,141±5,227	6,665±0,086
		КТТ, 1 сутки	56,542±1,307*	345,074±4,538*	2,687±0,074*
		КТТ, 7 сутки	64,461±0,964*/**	388,23±2,669*/**	2,756±0,038*
		КТТ, 10 сутки	72,672±1,152*/**	403,715±5,583*/**	3,240±0,056*/**
Почки	гомогенат	Здоровые крысы	580,286±5,487	709,552±11,471	66,803±1,203
		КТТ, 1 сутки	189,710±3,521*	417,645±4,389*	20,627±0,345*
		КТТ, 7 сутки	307,235±4,673*/**	619,130±8,674*/**	24,615±0,167*
		КТТ, 10 сутки	327,451±3,995*/**	620,045±7,338*/**	27,877±0,223*/**
	цитоплазматическая фракция	Здоровые крысы	417,146±2,684	580,965±6,017	51,543±2,007
		КТТ, 1 сутки	225,805±1,732*	394,795±3,554*	32,723±0,346*
		КТТ, 7 сутки	231,585±2,286*	395,560±2,718*	34,309±0,258*
		КТТ, 10 сутки	302,047±3,109*/**	487,862±6,055*/**	38,328±0,199*/**
	митохондрии	Здоровые крысы	88,848±1,056	141,806±4,304	39,256±0,968
		КТТ, 1 сутки	41,381±1,207*	85,613±2,587*	23,345±1,025*
		КТТ, 7 сутки	49,032±2,133*	97,130±3,369*	25,492±0,887*
		КТТ, 10 сутки	56,940±0,895*/**	107,481±6,115*/**	28,019±0,654*
Сердце	гомогенат	Здоровые крысы	326,559±7,214	410,955±12,872	63,196±2,031
		КТТ, 1 сутки	235,423±3,652*	354,858±10,765*	43,995±1,229*
		КТТ, 7 сутки	240,650±6,083*	362,840±11,284*	43,966±2,005*
		КТТ, 10 сутки	248,098±5,471*	368,033±6,752*	45,448±1,014*
	цитоплазматическая фракция	Здоровые крысы	579,633±8,876	1158,824±12,084	25,013±0,657
		КТТ, 1 сутки	225,639±5,342*	776,648±11,012*	8,454±0,728*
		КТТ, 7 сутки	346,240±6,576*/**	841,241±10,135*/**	16,962±0,687*/**
		КТТ, 10 сутки	367,812±4,814*/**	875,201±8,167*/**	17,654±0,939*/**
	митохондрии	Здоровые крысы	147,401±1,339	197,572±2,049	55,672±3,261
		КТТ, 1 сутки	70,945±2,056*	146,125±1,118*	23,604±0,792*
		КТТ, 7 сутки	80,352±1,715*	159,034±3,276*/**	25,518±0,965*
		КТТ, 10 сутки	84,786±2,005*/**	167,996±2,543*/**	25,492±1,004*
легкие	гомогенат	Здоровые крысы	143,801±4,257	256,951±3,006	31,281±1,153
		КТТ, 1 сутки	64,205±2,104*	201,403±1,956*	10,169±0,158*
		КТТ, 7 сутки	69,730±1,589*	202,788±3,679*	11,829±0,675*
		КТТ, 10 сутки	106,165±2,121*/**	204,308±3,018*	26,975±0,843/**
	цитоплазматическая фракция	Здоровые крысы	234,676±9,573	400,209±1,157	34,369±0,902
		КТТ, 1 сутки	105,060±2,046*	277,126±0,976*	14,367±0,154*
		КТТ, 7 сутки	145,458±1,875*/**	312,790±4,305*/**	21,628±0,597*/**
		КТТ, 10 сутки	158,626±3,023*/**	346,462±5,217*/**	20,971±0,662*/**
	митохондрии	Здоровые крысы	166,340±1,227	175,724±1,893	89,678±2,058
		КТТ, 1 сутки	66,401±2,335*	122,126±1,654*	29,581±0,461*
		КТТ, 7 сутки	80,441±2,386*/**	135,871±2,813*/**	35,050±0,773*
		КТТ, 10 сутки	105,854±3,397*/**	148,120±3,327*/**	51,108±1,581*/**

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ); \*\*\* - различия статистически значимы по сравнению с 7 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ).

При вычислении интегрального показателя, характеризующего динамику метаболизма, установлено снижение КБЭР в субклеточных фракциях органов у животных с КТТ, что свидетельствует о нарушении

энергетического метаболизма при ТТ, способствует увеличению содержания молочной кислоты в органах, которая образуется преимущественно М-формой ЛДГ (ЛДГобр) [356]. КБЭР уменьшился после КТТ по сравнению с КБЭР здоровых крыс в гомогенате, цитозоле, митохондриях печени на 1 сутки в 6,1 раза ( $p < 0,001$ ), в 4,5 раза ( $p < 0,001$ ), в 2,5 раза ( $p < 0,001$ ), 7 сутки – в 3,8 раза ( $p < 0,001$ ), в 2,5 раза ( $p < 0,001$ ), в 2,4 раза ( $p < 0,001$ ), 10 сутки – в 3,1 раза ( $p < 0,001$ ), на 43% ( $p = 0,024$ ), в 2,1 раза ( $p < 0,001$ ) (табл. 28), почек на 1 сутки – в 3,2 раза ( $p < 0,001$ ), на 36% ( $p = 0,031$ ), на 41% ( $p = 0,011$ ), 7 сутки – в 2,7 раза ( $p < 0,001$ ), на 33% ( $p = 0,037$ ), на 36% ( $p = 0,024$ ), 10 сутки – в 2,4 раза ( $p < 0,001$ ), на 26% ( $p = 0,038$ ), на 29% ( $p = 0,033$ ), сердца на 1 сутки – на 31% ( $p = 0,026$ ), в 2,9 раза ( $p < 0,001$ ), в 2,4 раза ( $p < 0,001$ ), 7 сутки – на 30% ( $p = 0,031$ ), 33% ( $p = 0,039$ ), в 2,2 раза ( $p < 0,001$ ), 10 сутки – на 28% ( $p = 0,019$ ), 29% ( $p = 0,025$ ), в 2,2 раза ( $p < 0,001$ ), легких на 1 сутки – в 3,1 раза ( $p < 0,001$ ), в 2,4 раза ( $p < 0,001$ ), в 3,0 раза ( $p < 0,001$ ), 7 сутки – в 2,6 раза ( $p < 0,001$ ), на 37% ( $p = 0,024$ ), в 2,6 раза ( $p < 0,001$ ), 10 сутки – на 14% ( $p = 0,038$ ), 39% ( $p = 0,021$ ), 43% ( $p = 0,020$ ), в крови на 1 сутки – в 2,8 раза ( $p < 0,001$ ), 7 сутки – на 42% ( $p = 0,017$ ), 10 сутки – на 28% ( $p = 0,040$ ). По данным литературы при ТТ активность ЛДГ уменьшается за счет снижения  $V_{max}$  и увеличения константы Михаэлиса [356]. На фоне ТТ происходит снижение константы ингибирования и диапазона эффективных концентраций пирувата [410].

Изменения активности ЛДГ при КТТ сопровождались изменениями ее кинетических параметров. В крови на 1, 7, 10 сутки после КТТ по сравнению с показателями здоровых животных для ЛДГпр, ЛДГобр  $K_t$  увеличилось,  $V_{max}$  и  $V_{max}/K_t$  снизились (табл. 29). Ингибирование удельной активности ЛДГ в прямой и обратной реакциях в субклеточных фракциях печени, почках, сердце и легких при КТТ (1, 7, 10 сутки) обусловлено снижением сродства фермента к субстрату (повышением  $K_t$ ) и  $V_{max}/K_t$ . В сердце и легких крыс с КТТ выявлено также снижение  $V_{max}$  (табл. 30, 31).

Таблица 29

Кинетические показатели лактатдегидрогеназы в крови крыс  
с комбинированной термической травмой

Фермент	Кинетический показатель	здоровые животные	животные с КТТ		
			1 сутки	7 сутки	10 сутки
ЛДГ пр	Kt, мин	2,14±0,08	5,32±0,11*	5,07±0,10*	3,46±0,11*/**/**
	Vmax, мкмоль/мин	13,48±0,13	6,58±0,21*	7,42±0,17*/**	7,44±0,26*/**
	Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	6,30±0,14	1,24±0,09*	1,46±0,05*	2,15±0,09*/**/**
ЛДГобр	Kt, мин	3,25±0,07	5,97±0,13*	5,88±0,14*	6,01±0,08*
	Vmax, мкмоль/мин	11,71±0,20	6,84±0,08*	7,03±0,18*	6,99±0,15*
	Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	3,60±0,10	1,15±0,04*	1,19±0,06*	1,16±0,03*

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами (p<0,05); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ (p<0,05); \*\*\* - различия статистически значимы по сравнению с 7 сутками КТТ (p<0,05).

Таблица 30

**Кинетические показатели лактатдегидрогеназы в прямой реакции в субклеточных фракциях органов крыс с комбинированной термической травмой**

Орган	Субклеточная фракция	Кинетический показатель	здоровые животные	животные с КТТ		
				1 сутки	7 сутки	10 сутки
Печень	Гомогенат	Kt, мин	0,94±0,05	2,56±0,07*	2,14±0,10*	1,99±0,04*/**
		Vmax, мкмоль/мин	10,23±0,12	10,15±0,14	10,20±0,18	10,28±0,22
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	10,88±0,23	3,97±0,05*	4,77±0,14*/**	5,17±0,11*/**
	Цитоплазматическая фракция	Kt, мин	0,87±0,03	2,01±0,10*	1,75±0,12*	1,64±0,08*
		Vmax, мкмоль/мин	9,31±0,27	9,56±0,17	9,42±0,22	9,27±0,15
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	10,70±0,25	4,76±0,14*	5,38±0,08*/**	5,65±0,10*/**
	Митохондриальная фракция	Kt, мин	0,95±0,06	3,04±0,11*	2,57±0,08*	2,31±0,10*
		Vmax, мкмоль/мин	8,82±0,21	9,01±0,09	8,94±0,17	8,79±0,25
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	9,28±0,19	2,96±0,05*	3,48±0,10*/**	3,81±0,08*/**
Почки	Гомогенат	Kt, мин	1,02±0,05	2,57±0,08*	2,48±0,12*	1,96±0,07*/**/**
		Vmax, мкмоль/мин	7,54±0,13	7,46±0,20	7,50±0,16	7,61±0,12
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	7,39±0,22	2,90±0,04*	3,02±0,11*	3,88±0,07*/**/**
	цитоплазматическая фракция	Kt, мин	0,82±0,04	1,77±0,10*	1,74±0,06*	1,58±0,04*
		Vmax, мкмоль/мин	6,36±0,11	6,48±0,19	6,33±0,20	6,29±0,17
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	7,76±0,22	3,66±0,13*	3,64±0,08*	3,98±0,19*
	Митохондриальная фракция	Kt, мин	1,11±0,08	2,85±0,13*	2,49±0,14*	2,27±0,05*/**
		Vmax, мкмоль/мин	8,03±0,15	7,96±0,22	8,15±0,19	7,88±0,25
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	7,23±0,21	2,79±0,11*	3,27±0,07*/**	3,47±0,08*/**
Сердце	Гомогенат	Kt, мин	0,45±0,02	2,04±0,05*	1,57±0,15*/**	1,41±0,08*/**
		Vmax, мкмоль/мин	4,63±0,12	1,71±0,09*	2,69±0,03*/**	2,78±0,10*/**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	10,29±0,23	0,84±0,02*	1,71±0,10*/**	1,97±0,14*/**
	цитоплазматическая фракция	Kt, мин	0,53±0,02	1,74±0,12*	1,62±0,06*	1,19±0,04*/**
		Vmax, мкмоль/мин	3,79±0,08	0,84±0,02*	1,77±0,05*/**	1,82±0,14*/**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	7,15±0,14	0,48±0,03*	1,09±0,06*/**	1,53±0,12*/**/**
	Митохондриальная фракция	Kt, мин	0,48±0,02	1,67±0,14*	1,55±0,08*	1,36±0,05*
		Vmax, мкмоль/мин	4,55±0,13	1,59±0,21*	2,48±0,07*/**	2,57±0,06*/**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	9,48±0,24	0,95±0,04*	1,60±0,019*/**	1,89±0,10*/**
легкие	Гомогенат	Kt, мин	0,77±0,04	2,04±0,07*	1,49±0,05*/**	1,26±0,09*/**
		Vmax, мкмоль/мин	5,86±0,14	3,91±0,08*	4,25±0,04*	4,33±0,11*
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	7,61±0,06	1,92±0,11*	2,85±0,06*/**	4,09±0,04*/**/**

	цитоплазматическая фракция	Kt, мин	0,71±0,04	1,89±0,11*	1,74±0,21*	1,71±0,17*
		Vmax, мкмоль/мин	5,94±0,12	2,02±0,07*	2,11±0,10*	2,93±0,09 **/**/**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	8,37±0,25	1,07±0,04*	1,22±0,07*	1,71±0,10 **/**/**
	Митохондриальная фракция	Kt, мин	0,83±0,05	2,56±0,12*	2,47±0,16*	2,33±0,09*
		Vmax, мкмоль/мин	4,72±0,10	1,75±0,15*	2,69±0,08**/**	2,70±0,05**/**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	5,69±0,31	0,68±0,05*	1,09±0,03**/**	1,16±0,09**/**

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами (p<0,05); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ (p<0,05); \*\*\* - различия статистически значимы по сравнению с 7 сутками КТТ (p<0,05).

Таблица 31

**Кинетические показатели лактатдегидрогеназы в обратной реакции в субклеточных фракциях органов крыс с комбинированной термической травмой**

Орган	Субклеточная фракция	Кинетический показатель	здоровые животные	животные с КТТ		
				1 сутки	7 сутки	10 сутки
Печень	Гомогенат	Kt, мин	2,03±0,05	5,12±0,10*	4,68±0,08*	4,39±0,14**/**
		Vmax, мкмоль/мин	15,87±0,20	16,02±0,18	15,79±0,16	15,93±0,21
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	7,82±0,11	3,13±0,09*	3,37±0,10*	3,63±0,07**/**
	Цитоплазматическая	Kt, мин	2,14±0,12	6,75±0,14*	4,63±0,06**/**	4,57±0,23**/**
		Vmax, мкмоль/мин	14,32±0,09	14,47±0,21	14,29±0,19	14,31±0,15
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	6,69±0,18	2,14±0,04*	3,09±0,07**/**	3,13±0,12**/**
	Митохондриальная	Kt, мин	1,95±0,05	4,85±0,13*	4,31±0,16*	3,64±0,09**/**/**
		Vmax, мкмоль/мин	15,67±0,31	15,72±0,12	15,65±0,24	15,70±0,20
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	8,04±0,16	3,24±0,07*	3,63±0,10*	4,31±0,12**/**/**
Почки	Гомогенат	Kt, мин	1,52±0,03	4,15±0,08*	3,87±0,12*	3,56±0,11**/**
		Vmax, мкмоль/мин	13,25±0,21	13,34±0,18	13,21±0,09	13,28±0,23
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	8,72±0,20	3,21±0,06*	3,41±0,11*	3,73±0,13**/**
	Цитоплазматическая	Kt, мин	1,44±0,05	3,54±0,12*	3,27±0,08*	2,67±0,10**/**/**
		Vmax, мкмоль/мин	12,75±0,20	12,81±0,17	12,73±0,21	12,80±0,33
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	8,85±0,12	3,62±0,06*	3,89±0,07*	4,79±0,15**/**/**
	Митохондриальная	Kt, мин	1,62±0,08	4,05±0,10*	3,38±0,13**/**	2,71±0,09**/**/**
		Vmax, мкмоль/мин	12,89±0,34	12,92±0,20	12,94±0,21	12,85±0,17
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	7,96±0,15	3,19±0,12*	3,83±0,08**/**	4,74±0,19**/**/**
Сердце	Гомогенат	Kt, мин	0,38±0,03	1,65±0,08*	1,39±0,06*	1,16±0,05**/**
		Vmax, мкмоль/мин	8,56±0,13	4,01±0,04*	4,25±0,14*	4,37±0,12**/**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	22,53±0,21	2,43±0,11*	3,06±0,07**/**	3,77±0,13**/**/**
	Цитоплазматическая	Kt, мин	0,45±0,05	1,76±0,12*	1,34±0,09*	1,19±0,06**/**
		Vmax, мкмоль/мин	9,01±0,11	3,89±0,07*	4,59±0,10**/**	4,62±0,08**/**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	20,02±0,31	2,21±0,09*	3,43±0,12**/**	3,88±0,20**/**
	Митохондриальная	Kt, мин	0,41±0,03	1,62±0,11*	1,61±0,08*	1,39±0,13*
		Vmax, мкмоль/мин	8,67±0,23	3,57±0,06*	4,01±0,14*	4,65±0,17**/**/**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	21,15±0,34	2,20±0,07*	2,49±0,05*	3,35±0,12**/**/**
Легкие	Гомогенат	Kt, мин	0,27±0,04	0,98±0,08*	0,76±0,09*	0,83±0,05*
		Vmax, мкмоль/мин	5,41±0,30	2,42±0,10*	2,53±0,11*	2,57±0,06*
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	20,04±0,27	2,47±0,15*	3,33±0,18**/**	3,10±0,09**/**
	Цитоплазматическая	Kt, мин	0,36±0,04	1,23±0,11*	1,08±0,05*	0,95±0,07**/**
		Vmax, мкмоль/мин	5,38±0,13	2,48±0,20*	2,54±0,14*	3,02±0,06**/**/**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	14,94±0,22	2,02±0,07*	2,35±0,10*	3,18±0,09**/**/**
	Митохондриальная	Kt, мин	0,32±0,03	1,18±0,05*	0,97±0,04*	0,84±0,03**/**
		Vmax, мкмоль/мин	4,99±0,17	1,76±0,10*	2,44±0,12**/**	2,53±0,11**/**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	15,59±0,23	1,49±0,08*	2,52±0,14**/**	3,01±0,013**/**

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами (p<0,05); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ (p<0,05); \*\*\* - различия статистически значимы по сравнению с 7 сутками КТТ (p<0,05).

Характеристика типов ингибирования ЛДГ приведена в таблице 32.

Таблица 32

Характеристика типов ингибирования ЛДГ при комбинированной термической травме

Ткань		Тип ингибирования	
		ЛДГпр	ЛДГобр
кровь		Двухпараметрически согласованное	Двухпараметрически согласованное
печень	гомогенат	Ассоциативное	Ассоциативное
	цитозоль	Ассоциативное	Ассоциативное
	митохондрии	Ассоциативное	Ассоциативное
почки	гомогенат	Ассоциативное	Ассоциативное
	цитозоль	Ассоциативное	Ассоциативное
	митохондрии	Ассоциативное	Ассоциативное
сердце	гомогенат	Двухпараметрически согласованное	Двухпараметрически согласованное
	цитозоль	Двухпараметрически согласованное	Двухпараметрически согласованное
	митохондрии	Двухпараметрически согласованное	Двухпараметрически согласованное
легкие	гомогенат	Двухпараметрически согласованное	Двухпараметрически согласованное
	цитозоль	Двухпараметрически согласованное	Двухпараметрически согласованное
	митохондрии	Двухпараметрически согласованное	Двухпараметрически согласованное

Таким образом, КТТ отразилась на метаболическом состоянии органов, повлияв на активность ЛДГ, изменения которой связаны с физиологическими, цитологическими и анатомическими нарушениями организма при КТТ, к которым можно отнести ЭИ, полиорганную недостаточность, трансформацию клеточных структур и гипоксию. Отмеченный сдвиг каталитических свойств ЛДГ может быть обусловлен изменением кинетических характеристик фермента вследствие его возможных конформационных перестроек. Показано, что КТТ привела к снижению активности ЛДГ в печени, легких, сердце и почках и, как следствие, к увеличению молочной кислоты, способствуя развитию гипоксии органов и тканей вследствие развития метаболического ацидоза. Нарушение соотношения лактат/пируват свидетельствует об изменении промежуточного метаболизма клеток в анаэробных условиях [279; 356]. В работе Р.И. Сеферовой с соавт. [342] показано, что через 1 час после теплового воздействия (45°C) в митохондриях тканей лактат увеличивается в 4 раза, а пируват – в 1,5 раза. Ингибирование ЛДГ – основной источник нарушения метаболизма, так как ЛДГ регулирует катаболизм и анаболизм, анаэробный и аэробный гликолиз, участвует в метаболизме углеводов [292; 356], и образует функциональный надмолекулярный комплекс с АДГ [14; 93; 126].

Обратимость и высокая активность ЛДГ и АДГ позволяют парам субстратов лактат/пируват и ацетальдегид/этанол играть важную роль в контроле над отношением НАД/НАДН, оказывая влияние на окислительно-восстановительный потенциал клетки.

### 3.1.6. Активность и кинетические свойства алкогольдегидрогеназы в органах крыс с комбинированной термической травмой

Основная активность АДГобр у здоровых животных (рис. 34) и крыс с КТТ обнаружена в цитозоле печени, почек, сердца и легких (рис. 35, 36, 37).

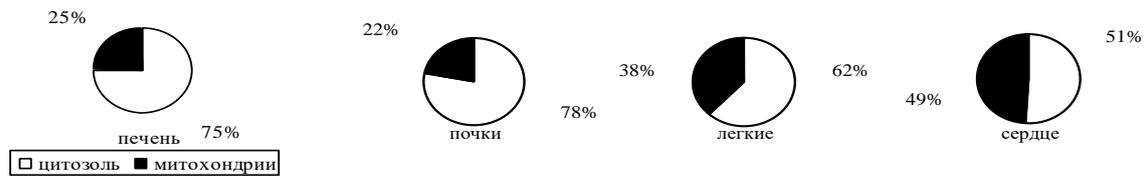


Рис. 34. Общая активность АДГобр (мкмоль НАДН/мин×г ткани) в субклеточных фракциях органов здоровых крыс

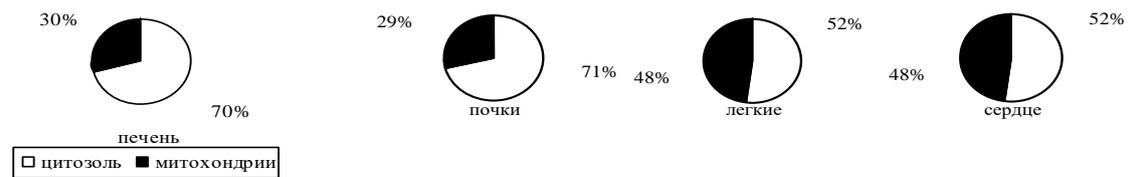


Рис. 35. Общая активность АДГобр (мкмоль НАДН/мин×г ткани) в субклеточных фракциях органов крыс с КТТ (1 сутки)

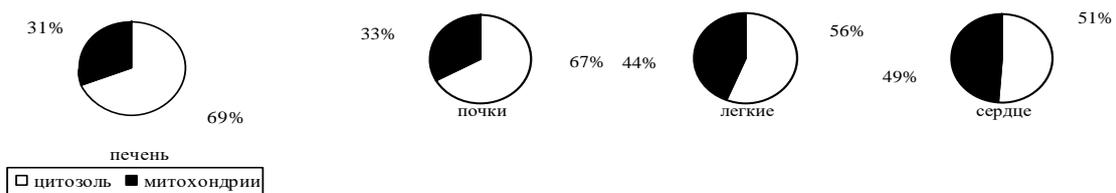


Рис. 36. Общая активность АДГобр (мкмоль НАДН/мин×г ткани) в субклеточных фракциях органов крыс с КТТ (7 сутки)

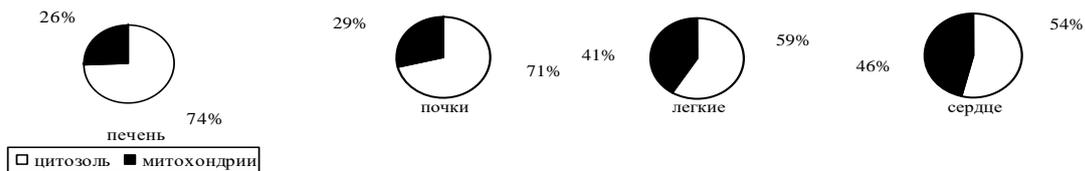


Рис. 37. Общая активность АДГобр (мкмоль НАДН/мин×г ткани) в субклеточных фракциях органов крыс с КТТ (10 сутки)

Отмечено снижение общей активности АДГобр в органах крыс с КТТ на 1, 7 и 10 сутки после КТТ. Полученные результаты распределения общей

активности АДГобр в норме и 10 сутки после КТТ в гомогенате различных органов соответствовали данным литературы [786]. При этом общая активность АДГобр располагалась в порядке ее уменьшения: печень > легкие > почки > сердце. У крыс с КТТ на 1 сутки общая активность АДГобр располагалась: печень > сердце > легкие > почки; на 7 сутки следующим образом: легкие > почки > сердце > печень (табл. 33).

Таблица 33

Распределение общей активности АДГобр (мкмоль НАДН/мин×г ткани) в гомогенате органов у крыс с комбинированной термической травмой

Условия эксперимента	печень	почки	легкие	сердце
Здоровые крысы	43,606±2,026	24,866±1,012	27,037±0,912	22,456±1,037
КТТ, 1 сутки	26,446±1,005*	11,657±0,341*	12,562±0,241*	15,694±0,422*
КТТ, 7 сутки	9,411±0,307*	18,572±0,289*/**	19,293±0,173*/**	16,531±0,397*
КТТ, 10 сутки	31,239±1,128*	20,360±0,167*/**/**	20,689±0,356*/**	19,984±0,651*/**/**

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ); \*\*\* - различия статистически значимы по сравнению с 7 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ).

Основная активность АДГпр у здоровых животных (рис. 38) и крыс с КТТ также обнаружена в цитоплазматической фракции всех исследуемых органов (рис. 39, 40, 41).

Наблюдалось снижение общей активности АДГпр в гомогенате органов при КТТ (табл. 34). Показано, что общая активность АДГпр у здоровых животных в гомогенате органов располагалась в соответствии с данными литературы [786]: печень > легкие > почки > сердце. У крыс с КТТ на 1, 7 и 10 сутки после КТТ общая активность АДГпр располагалась: печень > почки > легкие > сердце [364].

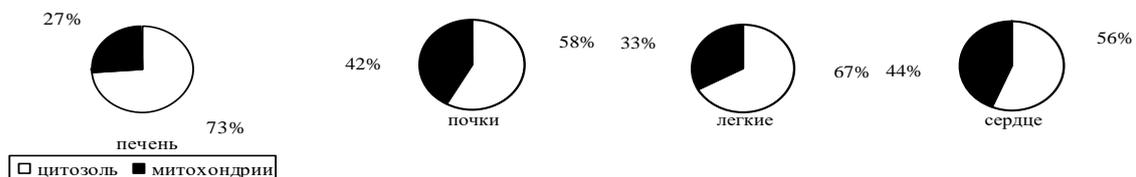


Рис. 38. Общая активность АДГпр (мкмоль НАДН/мин×г ткани) в субклеточных фракциях органов здоровых крыс

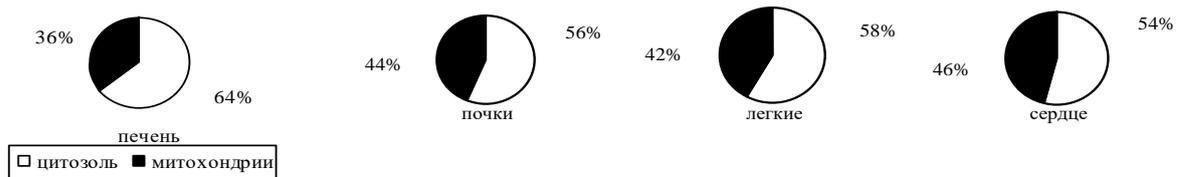


Рис. 39. Общая активность АДГпр (мкмоль НАДН/мин×г ткани) в субклеточных фракциях органов крыс с КТТ (1 сутки)

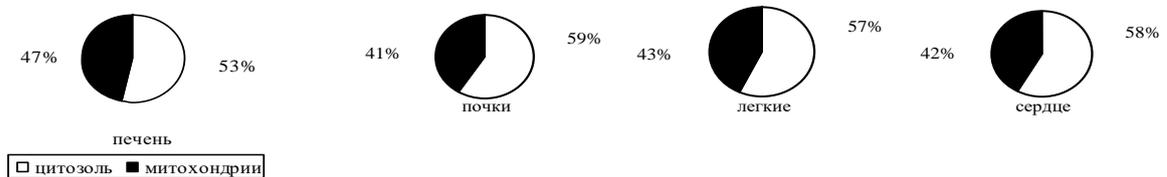


Рис. 40. Общая активность АДГпр (мкмоль НАДН/мин×г ткани) в субклеточных фракциях органов крыс с КТТ (7 сутки)

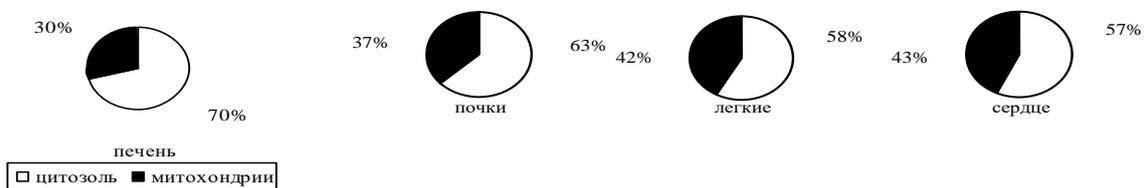


Рис. 41. Общая активность АДГпр (мкмоль НАДН/мин×г ткани) в субклеточных фракциях органов крыс с КТТ (10 сутки)

Таблица 34

Распределение общей активности АДГпр (мкмоль НАДН/мин×г ткани) в гомогенате органов у крыс с комбинированной термической травмой

Условия эксперимента	печень	почки	легкие	сердце
Здоровые крысы	10,815±0,712	8,809±0,205	10,050±0,725	4,462±0,188
КТТ, 1 сутки	9,370±0,263*	5,452±0,151*	3,472±0,097*	2,190±0,075*
КТТ, 7 сутки	8,308±0,250**/**	5,621±0,133	4,582±0,131**/**	2,753±0,049**/**
КТТ, 10 сутки	11,595±0,572**/**	6,467±0,212**/**	6,301±0,204**/**	3,556±0,102**/**

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ); \*\*\* - различия статистически значимы по сравнению с 7 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ).

Показано, что в гомогенате, цитозоле и митохондриях печени после КТТ по сравнению с показателями здоровых животных удельная активность АДГпр, АДГобр уменьшилась на 1, 7, 10 сутки (табл. 35). Ингибирование АДГ в печени при КТТ может быть обусловлено повреждением и изменением функционирования клеточных ультраструктур, разобщением в митохондриях фосфорилирования и дыхания, а также действием токсических веществ на каталитические свойства оксидоредуктаз [22; 364]. По данным литературы активность дегидрогеназ уменьшается в печени при ТТ [325; 352]. Важнейшим патогенетическим механизмом, ведущим к острой

печеночной недостаточности, являются мембранодестабилизирующие явления, эфферентными звеньями которых выступают увеличивающиеся процессы ПОЛ, ЭИ, фосфолипазная активность и гипоксия тканевых структур органа [56].

После КТТ по сравнению с показателями здоровых животных в субклеточных фракциях почек, сердца, легких удельная активность АДГпр, АДГобр уменьшилась на 1, 7, 10 сутки (табл. 35). В. А. Корячкин и др. [177] высказали предположение, что нарушение функции почек при ожогах может иметь своей причиной воздействие токсических продуктов на их паренхиму и уменьшение притока крови к органу. Причиной патологических изменений миокарда при ТТ также является ЭИ [228], кроме того, несоответствие между объемом поступающей к сердцу крови и функциональной потребностью в ней, регулярно возникающее при ожоге, обусловленное рефлекторными нарушениями регуляции кровообращения [279; 352; 364].

Таблица 35

Удельная активность алкогольдегидрогеназы (нмоль НАДН/мин×мг белка) в органах крыс с комбинированной термической травмой

Объект исследования		Условия эксперимента	АДГпр, нмоль НАДН/мин×мг белка	АДГобр, нмоль НАДН/мин×мг белка	АДГпр/АДГобр
Печень	гомогенат	Здоровые крысы	119,224±4,113	306,444±5,213	0,389±0,004
		КТТ, 1 сутки	51,750±1,638*	96,253±3,140*	0,538±0,010*
		КТТ, 7 сутки	36,971±2,005**	50,571±0,638**	0,731±0,012**
		КТТ, 10 сутки	54,022±2,017**	129,868±4,225**	0,416±0,008**
	Цитозоль	Здоровые крысы	62,942±2,835	244,053±3,756	0,258±0,003
		КТТ, 1 сутки	50,556±0,424*	75,261±1,019*	0,672±0,021*
		КТТ, 7 сутки	41,570±0,998**	65,839±1,432**	0,631±0,015*
		КТТ, 10 сутки	51,411±1,307**	97,146±2,005**	0,529±0,009**
	митохондрии	Здоровые крысы	59,391±2,160	133,014±2,318	0,447±0,011
		КТТ, 1 сутки	27,508±0,939*	53,110±1,042*	0,518±0,013*
		КТТ, 7 сутки	20,111±0,856**	37,903±0,867**	0,531±0,020*
		КТТ, 10 сутки	41,766±1,597**	64,056±1,593**	0,652±0,018**
Почки	гомогенат	Здоровые крысы	28,175±1,028	129,642±3,221	0,217±0,006
		КТТ, 1 сутки	21,195±0,776*	63,288±1,016*	0,335±0,014*
		КТТ, 7 сутки	24,031±1,125	71,550±0,995**	0,336±0,009*
		КТТ, 10 сутки	24,332±1,301	84,173±2,047**	0,289±0,007**
	Цитозоль	Здоровые крысы	59,671±2,594	286,729±4,312	0,208±0,005
		КТТ, 1 сутки	36,995±1,876*	79,127±1,058*	0,467±0,016*
		КТТ, 7 сутки	45,650±2,043**	80,390±2,124*	0,568±0,010**
		КТТ, 10 сутки	46,772±1,985**	137,077±3,603**	0,341±0,008**
	Митохондрии	Здоровые крысы	28,418±1,321	265,769±4,249	0,107±0,004
		КТТ, 1 сутки	13,400±0,578*	61,090±0,897*	0,219±0,011*
		КТТ, 7 сутки	14,751±1,250*	77,571±2,253**	0,190±0,006*
		КТТ, 10 сутки	16,802±1,341*	113,880±2,116**	0,148±0,003**
Сердце	гомогенат	Здоровые крысы	44,710±2,566	167,371±2,044	0,267±0,004
		КТТ, 1 сутки	30,245±1,378*	103,620±1,862*	0,292±0,009*
		КТТ, 7 сутки	33,760±2,245*	111,968±1,755**	0,302±0,005*
		КТТ, 10 сутки	37,354±1,263**	115,358±3,007**	0,328±0,010**

	Цитозоль	Здоровые крысы	18,756±0,964	193,773±2,569	0,097±0,003	
		КТТ, 1 сутки	11,260±1,038*	46,460±1,582*	0,242±0,008*	
		КТТ, 7 сутки	13,081±0,726*	75,843±2,015*/**	0,172±0,010*/**	
		КТТ, 10 сутки	14,067±0,554*	94,106±1,473*/**/**	0,149±0,006*/**	
	митохондрии	Здоровые крысы	33,383±1,237	146,651±3,226	0,228±0,011	
		КТТ, 1 сутки	21,387±1,012*	81,548±1,339*	0,262±0,007*	
		КТТ, 7 сутки	23,583±1,205*	85,390±2,115*	0,276±0,013*	
		КТТ, 10 сутки	26,344±1,119*/**	91,472±1,756*/**	0,288±0,005*/**	
	Легкие	гомогенат	Здоровые крысы	48,393±1,431	271,385±3,043	0,178±0,004
			КТТ, 1 сутки	27,643±0,856*	102,352±1,491*	0,270±0,015*
			КТТ, 7 сутки	30,411±1,123*	122,575±2,362*/**	0,248±0,020*
			КТТ, 10 сутки	33,684±0,573*/**	150,560±1,414*/**/**	0,223±0,008*/**
Цитозоль		Здоровые крысы	27,264±0,946	770,710±4,305	0,035±0,002	
		КТТ, 1 сутки	16,830±0,532*	342,573±2,676*	0,049±0,006*	
		КТТ, 7 сутки	19,101±1,007*	365,241±4,032*/**	0,052±0,004*	
		КТТ, 10 сутки	20,876±0,346*/**	402,193±3,158*/**/**	0,052±0,006*	
митохондрии		Здоровые крысы	20,231±0,258	552,588±2,264	0,037±0,010	
		КТТ, 1 сутки	9,267±0,361*	180,871±1,973*	0,051±0,009*	
		КТТ, 7 сутки	14,740±1,123*/**	230,488±3,109*/**	0,064±0,008*	
		КТТ, 10 сутки	14,885±0,754*/**	252,843±2,755*/**/**	0,059±0,007*	

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p<0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ ( $p<0,05$ ); \*\*\* - различия статистически значимы по сравнению с 7 сутками КТТ ( $p<0,05$ ).

При КТТ по сравнению с показателями здоровых крыс в гомогенате, цитозоле, митохондриях выявлено повышение соотношения АДГпр/АДГобр в печени на 1 сутки на 38% ( $p=0,021$ ), в 2,6 раза ( $p<0,001$ ), на 16% ( $p=0,033$ ), 7 сутки – на 87% ( $p=0,015$ ), в 2,4 раза ( $p<0,001$ ), на 19% ( $p=0,038$ ), 10 сутки – на 7%, в 2,1 раза ( $p<0,001$ ), на 46% ( $p=0,024$ ), в почках на 1 сутки на 54% ( $p=0,029$ ), в 2,2 раза ( $p<0,001$ ), в 2,0 раза ( $p<0,001$ ), 7 сутки – на 55% ( $p=0,017$ ), в 2,7 раза ( $p<0,001$ ), на 78% ( $p=0,012$ ), 10 сутки – на 33% ( $p=0,038$ ), 64% ( $p=0,026$ ), 38% ( $p=0,036$ ), в сердце на 1 сутки на 9% ( $p=0,036$ ), в 2,5 раза ( $p<0,001$ ), на 15% ( $p=0,034$ ), 7 сутки – на 13% ( $p=0,038$ ), 77% ( $p=0,029$ ), 21% ( $p=0,041$ ), 10 сутки – на 23% ( $p=0,029$ ), 54% ( $p=0,023$ ), 26% ( $p=0,028$ ), в легких на 1 сутки на 52% ( $p=0,016$ ), 40% ( $p=0,024$ ), 38% ( $p=0,019$ ), 7 сутки – на 39% ( $p=0,028$ ), 49% ( $p=0,038$ ), 73% ( $p=0,028$ ), 10 сутки – на 25% ( $p=0,034$ ), 49% ( $p=0,026$ ), 60% ( $p=0,023$ ) (табл. 35) соответственно. Рост соотношения АДГпр/АДГобр при КТТ способствует увеличению содержания альдегидов в органах [364], которые являются одним из маркеров КС. Максимальное повышение АДГпр/АДГобр на все исследуемые сутки после КТТ в печени, почках и сердце выявлено в цитозоле, в легких – в митохондриях.

Ингибирование удельной активности АДГ в прямой, обратной реакциях в печени и почках при КТТ обусловлено уменьшением средства

фермента к субстрату,  $V_{\max}$  и  $V_{\max}/K_t$  АДГ. В сердце и легких крыс с КТТ выявлено снижение  $V_{\max}$  и  $V_{\max}/K_t$  для АДГпр и АДГобр (табл. 36, 37).

Таблица 36

Кинетические показатели алкогольдегидрогеназы в прямой реакции в субклеточных фракциях органов крыс с комбинированной термической травмой

Орган	Субклеточная фракция	Кинетический показатель	здоровые животные	животные с КТТ		
				1 сутки	7 суток	10 суток
Печень	Гомогенат	Kt, мин	1,45±0,07	3,06±0,07*	3,21±0,11*	2,87±0,12*/***
		$V_{\max}$ , мкмоль/мин	7,96±0,21	3,84±0,11*	3,45±0,23*	4,02±0,08*/***
		$V_{\max}/K_t$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	5,49±0,16	1,25±0,03*	1,08±0,04*/**	1,40±0,03*/***
	Цитозоль	Kt, мин	1,36±0,05	2,74±0,09*	2,98±0,10*	2,65±0,24*
		$V_{\max}$ , мкмоль/мин	8,02±0,13	4,89±0,10*	4,67±0,19*	5,01±0,16*
		$V_{\max}/K_t$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	5,90±0,15	1,79±0,08*	1,57±0,02*/**	1,89±0,05*/***
	Митохондрии	Kt, мин	1,40±0,06	2,63±0,15*	3,07±0,09*/**	2,61±0,20*
		$V_{\max}$ , мкмоль/мин	8,13±0,09	4,76±0,22*	4,52±0,13*	4,85±0,14*
		$V_{\max}/K_t$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	5,81±0,17	1,81±0,03*	1,47±0,07*/**	1,86±0,06*/***
Почки	Гомогенат	Kt, мин	2,35±0,08	4,38±0,12*	4,19±0,11*	3,76±0,18*/**
		$V_{\max}$ , мкмоль/мин	13,75±0,31	7,75±0,20*	8,21±0,16*	8,34±0,30*
		$V_{\max}/K_t$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	5,85±0,12	1,77±0,09*	1,96±0,05*	2,22±0,07*/**
	цитозоль	Kt, мин	2,27±0,09	5,02±0,11*	4,87±0,20*	4,63±0,15*
		$V_{\max}$ , мкмоль/мин	10,65±0,24	6,78±0,14*	6,93±0,15*	7,02±0,14*
		$V_{\max}/K_t$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	4,69±0,16	1,35±0,07*	1,42±0,06*	1,52±0,05*
	Митохондрии	Kt, мин	2,18±0,08	4,65±0,12*	4,49±0,18*	4,02±0,16*/**
		$V_{\max}$ , мкмоль/мин	13,69±0,22	7,28±0,21*	7,65±0,22*	8,13±0,13*/**
		$V_{\max}/K_t$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	6,28±0,10	1,57±0,08*	1,70±0,07*	2,02±0,04*/**/***
Сердце	Гомогенат	Kt, мин	2,03±0,04	2,10±0,06	2,14±0,05	1,93±0,07
		$V_{\max}$ , мкмоль/мин	12,68±0,22	7,56±0,15*	7,68±0,20*	8,12±0,10*/**/***
		$V_{\max}/K_t$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	6,25±0,16	3,60±0,12*	3,59±0,09*	4,21±0,08*/**/***
	цитозоль	Kt, мин	1,99±0,03	1,91±0,05	2,10±0,03	2,05±0,06
		$V_{\max}$ , мкмоль/мин	12,56±0,24	7,07±0,14*	7,34±0,23*	7,56±0,24*
		$V_{\max}/K_t$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	6,31±0,15	3,70±0,08*	3,50±0,11*	3,69±0,13*
	Митохондрии	Kt, мин	2,14±0,07	2,16±0,02	2,05±0,04	2,17±0,12
		$V_{\max}$ , мкмоль/мин	11,95±0,10	5,72±0,21*	5,86±0,12*	6,04±0,09*
		$V_{\max}/K_t$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	5,58±0,13	2,65±0,16*	2,86±0,10*	2,78±0,13*
легкие	Гомогенат	Kt, мин	1,37±0,05	1,40±0,05	1,35±0,08	1,32±0,06
		$V_{\max}$ , мкмоль/мин	9,54±0,18	4,37±0,17*	4,68±0,12*	5,01±0,14*/**
		$V_{\max}/K_t$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	6,96±0,11	3,12±0,07*	3,47±0,17*/**	3,80±0,17*/**
	цитозоль	Kt, мин	1,24±0,04	1,29±0,03	1,19±0,06	1,21±0,06
		$V_{\max}$ , мкмоль/мин	9,18±0,12	5,37±0,12*	5,86±0,10*/**	6,35±0,14*/**/***
		$V_{\max}/K_t$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	7,40±0,20	4,16±0,15*	4,92±0,16*/**	5,25±0,09*/**
	Митохондрии	Kt, мин	1,33±0,07	1,35±0,06	1,27±0,05	1,29±0,05
		$V_{\max}$ , мкмоль/мин	10,25±0,10	6,64±0,13*	6,83±0,12*	7,05±0,15*
		$V_{\max}/K_t$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	7,71±0,14	4,92±0,21*	5,38±0,09*/**	5,47±0,12*/**

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p<0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ ( $p<0,05$ ); \*\*\* - различия статистически значимы по сравнению с 7 сутками КТТ ( $p<0,05$ ).

Таблица 37

Кинетические показатели алкогольдегидрогеназы в обратной реакции в субклеточных фракциях органов крыс с комбинированной термической травмой

Орган	Субклеточная фракция	Кинетический показатель	здоровые животные	животные с КТТ		
				1 сутки	7 суток	10 суток
Печень	Гомогенат	Kt, мин	2,76±0,22	5,34±0,13*	5,63±0,17*	5,28±0,09*
		$V_{\max}$ , мкмоль/мин	15,24±0,11	7,92±0,15*	7,84±0,12*	8,15±0,15*
		$V_{\max}/K_t$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	5,52±0,14	1,48±0,07*	1,39±0,05*	1,54±0,08*
	Цитозол	Kt, мин	2,53±0,06	4,89±0,11*	5,02±0,09*	4,76±0,14*

	ь	Vmax, мкмоль/мин	14,96±0,32	7,76±0,20*	7,59±0,18*	7,85±0,13*	
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	5,91±0,11	1,59±0,06*	1,51±0,05*	1,65±0,08*	
	Митохондрии	Kt, мин	2,82±0,10	5,85±0,12*	5,97±0,14*	5,42±0,21*/***	
		Vmax, мкмоль/мин	15,06±0,33	6,92±0,13*	6,63±0,20*	7,15±0,12*/***	
Почки	Гомогенат	Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	5,34±0,12	1,18±0,06*	1,11±0,03*	1,32±0,07*	
		Kt, мин	1,06±0,03	2,34±0,12*	2,17±0,20*	1,99±0,08*/**	
		Vmax, мкмоль/мин	7,83±0,15	4,32±0,10*	4,46±0,07*	5,03±0,11*/**/**	
	цитозоль	Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	7,39±0,21	1,85±0,07*	2,06±0,08*	2,53±0,12*/**/**	
		Kt, мин	1,23±0,08	2,56±0,13*	2,48±0,21*	2,27±0,14*	
		Vmax, мкмоль/мин	8,15±0,09	4,32±0,11*	4,46±0,17*	4,83±0,23*	
	Митохондрии	Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	6,63±0,30	1,69±0,15*	1,80±0,09*	2,13±0,10*/**/**	
		Kt, мин	0,97±0,04	2,31±0,12*	2,19±0,07*	2,06±0,05*	
		Vmax, мкмоль/мин	7,65±0,23	3,98±0,16*	4,75±0,22*/**	4,83±0,14*/**	
	Сердце	Гомогенат	Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	7,89±0,15	1,72±0,08*	2,17±0,11*/**	2,34±0,12*/**
			Kt, мин	0,96±0,05	0,98±0,07	0,99±0,06	0,99±0,04
			Vmax, мкмоль/мин	5,45±0,24	2,34±0,13*	2,67±0,16*	2,78±0,10*/**
цитозоль		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	5,68±0,27	2,39±0,09*	2,70±0,17*	2,99±0,15*/**	
		Kt, мин	0,86±0,03	0,89±0,04	0,82±0,07	0,90±0,05	
		Vmax, мкмоль/мин	6,02±0,14	3,45±0,09*	3,63±0,12*	3,72±0,20*	
Митохондрии		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	7,00±0,18	3,88±0,13*	4,43±0,14*/**	4,13±0,11*	
		Kt, мин	0,92±0,06	0,95±0,07	0,89±0,07	0,97±0,05	
		Vmax, мкмоль/мин	5,78±0,18	3,03±0,09*	3,34±0,08*/**	3,48±0,14*/**	
Легкие		Гомогенат	Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	6,28±0,20	3,19±0,12*	3,75±0,17*/**	3,59±0,21*
			Kt, мин	0,61±0,09	0,65±0,06	0,59±0,07	0,57±0,06
			Vmax, мкмоль/мин	3,73±0,18	1,78±0,05*	1,86±0,13*	1,99±0,10*
	цитозоль	Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	6,11±0,22	2,74±0,11*	3,15±0,07*/**	3,49±0,12*/**/**	
		Kt, мин	0,72±0,07	0,69±0,05	0,75±0,06	0,66±0,04	
		Vmax, мкмоль/мин	3,08±0,09	1,47±0,08*	1,52±0,12*	1,58±0,21*	
	Митохондрии	Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	4,28±0,17	2,13±0,07*	2,03±0,10*	2,39±0,15*	
		Kt, мин	0,64±0,07	0,67±0,03	0,59±0,08	0,64±0,05	
		Vmax, мкмоль/мин	3,85±0,13	1,59±0,09*	1,64±0,20*	1,77±0,14*	
			Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	6,02±0,11	2,37±0,22*	2,78±0,18*	2,77±0,07*

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами (p<0,05); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ (p<0,05); \*\*\* - различия статистически значимы по сравнению с 7 сутками КТТ (p<0,05).

Характеристика типов ингибирования АДГ при КТТ приведена в таблице 38.

Таблица 38

## Характеристика типов ингибирования АДГ при КТТ

Ткань		Тип ингибирования	
		АДГпр	АДГобр
печень	гомогенат	Двухпараметрически согласованное	Двухпараметрически согласованное
	цитозоль	Двухпараметрически согласованное	Двухпараметрически согласованное
	митохондрии	Двухпараметрически согласованное	Двухпараметрически согласованное
почки	гомогенат	Двухпараметрически согласованное	Двухпараметрически согласованное
	цитозоль	Двухпараметрически согласованное	Двухпараметрически согласованное
	митохондрии	Двухпараметрически согласованное	Двухпараметрически согласованное
сердце	гомогенат	Каталитическое	Каталитическое
	цитозоль	Каталитическое	Каталитическое
	митохондрии	Каталитическое	Каталитическое
легкие	гомогенат	Каталитическое	Каталитическое
	цитозоль	Каталитическое	Каталитическое
	митохондрии	Каталитическое	Каталитическое

ЭИ – неотъемлемый спутник ОБ, возникающей при КТТ, который характеризуется накоплением неспецифических токсических веществ [160; 228; 782; 840]. Основным гомеостатическим барьером в защите организма от

ЭИ является система биотрансформации, важнейшие компоненты которой – ферменты микросомального и немикросомального окисления, к последним относят АДГ и АлДГ [352; 364].

### 3.1.7. Активность и кинетические свойства альдегиддегидрогеназы крови и органах крыс с ожогом

Основная активность АлДГ у здоровых животных выявлена в цитоплазматической фракции печени (61% суммарной активности) [352], почек (87%), легких (78%), сердца (84%) (рис. 42). Распределение общей активности АлДГ при КТТ аналогично здоровым крысам (рис. 43-45) на фоне более низкой общей активности во всех фракциях органов (табл. 39).

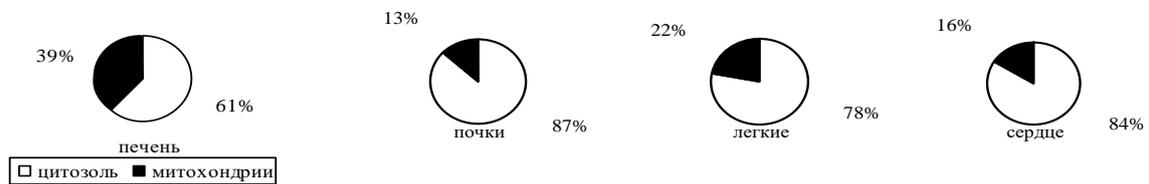


Рис. 42. Общая активность АлДГ (мкмоль НАДН/мин×г ткани) в субклеточных фракциях органов здоровых крыс

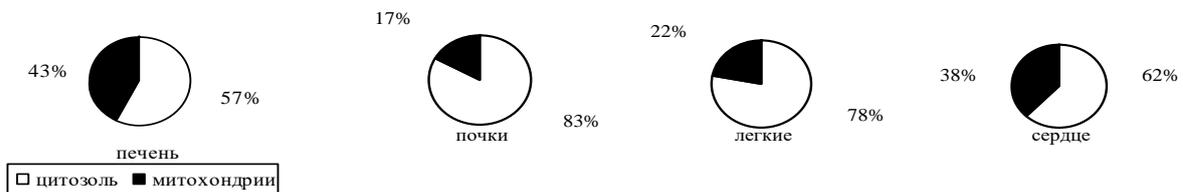


Рис. 43. Общая активность АлДГ (мкмоль НАДН/мин×г ткани) в субклеточных фракциях органов крыс с КТТ (1 сутки)

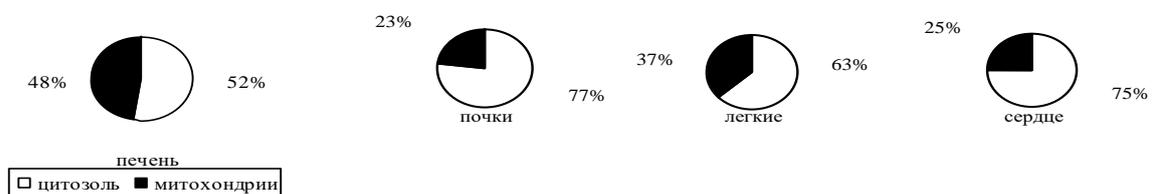


Рис. 44. Общая активность АлДГ (мкмоль НАДН/мин×г ткани) в субклеточных фракциях органов крыс с КТТ (7 сутки)

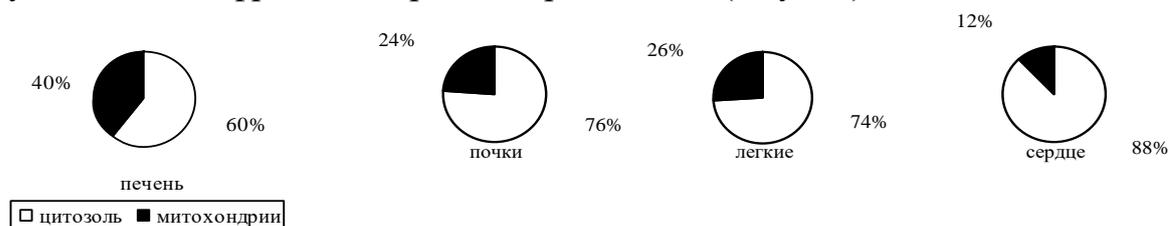


Рис. 45. Общая активность АлДГ (мкмоль НАДН/мин×г ткани) в субклеточных фракциях органов крыс с КТТ (10 сутки)

Общая активность АлДГ в норме в гомогенате органов располагалась: печень > почки > сердце > легкие, что соответствовало данным литературы [634]. При КТТ в органах наблюдалось перераспределение общей активности АлДГ. На 1 и 7 сутки после КТТ общая активность АлДГ располагалась: печень > сердце > почки > легкие (табл. 39). На 10 сутки после КТТ общая активность АлДГ распределилась: почки > печень > сердце > легкие.

Таблица 39

Распределение общей активности АлДГ (мкмоль НАДН/мин×г ткани) в гомогенате органов у крыс с комбинированной термической травмой

Условия эксперимента	печень	почки	легкие	сердце
Здоровые крысы	10,013±1,008	9,767±0,221	4,412±0,109	6,469±0,208
КТТ, 1 сутки	5,848±0,133*	4,024±0,158*	2,890±0,105*	4,101±0,076*
КТТ, 7 сутки	4,480±0,220**/**	3,380±0,146**/**	2,805±0,123*	4,201±0,105*
КТТ, 10 сутки	6,174±0,153**/**	6,837±0,151**/**	3,026±0,097*	4,325±0,113*

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p<0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ ( $p<0,05$ ); \*\*\* - различия статистически значимы по сравнению с 7 сутками КТТ ( $p<0,05$ ).

В результате проведенных исследований выявлена активность АлДГ в эритроцитах, тромбоцитах и плазме крови здоровых крыс (табл. 40). Активность АлДГ в тромбоцитах почти в 2 раза меньше, чем в эритроцитах. Согласно данным литературы активность АлДГ печени на 2 порядка больше, чем в эритроцитах, АлДГ эритроцитов аналогична изоферменту цитозоля печени [242; 352].

После КТТ по сравнению с показателями здоровых животных удельная активность АлДГ снизилась в эритроцитах, тромбоцитах и плазме крови на 1 сутки в 2,1 раза ( $p<0,001$ ), на 36% ( $p=0,031$ ), в 2,0 раза ( $p<0,001$ ), на 7 сутки – в 2,0 раза ( $p<0,001$ ), на 25% ( $p=0,035$ ), в 2,0 раза ( $p<0,001$ ), на 10 сутки – на 42% ( $p=0,018$ ), 24% ( $p=0,038$ ), 37% ( $p=0,027$ ) соответственно (табл. 40).

В гомогенате, цитозоле и митохондриях печени, почек, сердца, легких при КТТ по сравнению с показателями здоровых животных удельная активность АлДГ уменьшилась на 1, 7, 10 сутки (табл. 40). Известно, что при различных заболеваниях печени активность АлДГ в цитозоле печени снижается [242]. В условиях функциональной и структурной

неполноценности клеток печени, нарушения кровообращения и возникающей при этом гипоксии при КТТ в печени возникает ряд структурных изменений и тяжелые нарушения функции органа [279]. Поскольку кровь сразу подвергается действию эндотоксинов, образующихся в зоне ожога, поэтому, вероятно, активность АлДГ в эритроцитах снижена больше по сравнению с печенью [160; 352]. Содержание высокотоксичных альдегидов увеличивается при ряде патологических состояний: гипоксии [174], болезни Альцгеймера [735], канцерогенезе [749] и т.д. Известно, что щелочной ожог вызывает уменьшение активности АлДГ 3А1 (ALDH3A1) у мышей [563].

Таблица 40

Удельная активность альдегиддегидрогеназы (нмоль НАДН/мин× мг белка) в крови и органах крыс с комбинированной термической травмой

Объект исследования		Условия эксперимента	АлДГ, нмоль НАДН/мин×мг белка
Кровь	Эритроциты	Здоровые крысы	22,359±0,947
		КТТ, 1 сутки	10,491±0,305*
		КТТ, 7 сутки	10,862±0,411*
		КТТ, 10 сутки	13,014±0,228*/*/*/*
	Тромбоциты	Здоровые крысы	8,327±0,206
		КТТ, 1 сутки	6,184±0,113*
		КТТ, 7 сутки	6,253±0,098*
		КТТ, 10 сутки	6,304±0,102*
	Плазма	Здоровые крысы	22,029±1,155
		КТТ, 1 сутки	10,973±0,432*
		КТТ, 7 сутки	10,847±0,601*
		КТТ, 10 сутки	13,872±0,518*/*/*/*
Печень	гомогенат	Здоровые крысы	73,129±2,535
		КТТ, 1 сутки	40,190±1,278*
		КТТ, 7 сутки	47,338±1,304*/*
		КТТ, 10 сутки	48,539±2,403*/*
	цитоплазматическая фракция	Здоровые крысы	53,446±1,531
		КТТ, 1 сутки	32,500±1,009*
		КТТ, 7 сутки	35,394±1,786*
		КТТ, 10 сутки	39,615±1,420*
	митохондриальная фракция	Здоровые крысы	40,241±2,015
		КТТ, 1 сутки	23,592±1,471*
		КТТ, 7 сутки	25,244±0,643*
		КТТ, 10 сутки	27,222±1,253*
Почки	гомогенат	Здоровые крысы	106,546±4,379
		КТТ, 1 сутки	32,461±1,238*
		КТТ, 7 сутки	35,430±2,016*
		КТТ, 10 сутки	38,307±2,543*
	цитоплазматическая фракция	Здоровые крысы	39,281±2,151
		КТТ, 1 сутки	22,154±0,826*
		КТТ, 7 сутки	25,650±1,324*
		КТТ, 10 сутки	30,609±1,514*/*/*/*
	митохондриальная фракция	Здоровые крысы	38,797±1,354
		КТТ, 1 сутки	18,190±0,543*
		КТТ, 7 сутки	19,656±0,496*
		КТТ, 10 сутки	21,923±1,012*

Сердце	гомогенат	Здоровые крысы	25,465±1,348
		КТТ, 1 сутки	11,870±0,825*
		КТТ, 7 сутки	18,090±0,773*/**
		КТТ, 10 сутки	18,829±0,496*/**
	цитоплазматическая фракция	Здоровые крысы	67,981±2,008
		КТТ, 1 сутки	19,100±0,563*
		КТТ, 7 сутки	26,663±1,422*/**
		КТТ, 10 сутки	38,268±1,237*/**/**
	митохондриальная фракция	Здоровые крысы	162,262±4,381
		КТТ, 1 сутки	30,910±1,528*
		КТТ, 7 сутки	44,341±1,237*/**
		КТТ, 10 сутки	47,332±1,096*/**
легкие	гомогенат	Здоровые крысы	47,670±2,010
		КТТ, 1 сутки	30,379±0,986*
		КТТ, 7 сутки	34,191±1,170*
		КТТ, 10 сутки	37,580±1,453*/**
	цитоплазматическая фракция	Здоровые крысы	47,088±1,975
		КТТ, 1 сутки	27,316±1,058*
		КТТ, 7 сутки	30,443±1,462*
		КТТ, 10 сутки	33,260±1,009*/**
	митохондриальная фракция	Здоровые крысы	65,174±2,053
		КТТ, 1 сутки	32,035±0,547*
		КТТ, 7 сутки	32,124±0,769*
		КТТ, 10 сутки	44,931±1,802*/**/**

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ); \*\*\* - различия статистически значимы по сравнению с 7 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ).

Падение удельной и общей активности АлДГ в печени и легких крыс с ТТ, возможно, связано с увеличением содержания высокотоксичных МСМ, которые, связываясь с ферментом, переводят его в новое конформационное состояние, которое характеризуется снижением сродства фермента к субстрату реакции [130; 358]. Уменьшение активности АлДГ в крови, возможно, обусловлено инактивацией фермента вследствие деградации клеточных структур [154]. Выдвинуто предположение [154] об аутоиммунной природе биогенного ингибитора АлДГ и АДГ, увеличивающегося в сыворотке крови при интоксикации. Вследствие уменьшения активности АДГ в организме накапливается ацетальдегид, который химически активен и модифицирует белки (ряд изоферментов АлДГ); эти модифицированные белки выступают в роли гепатоспецифичных антигенов, провоцируя аутоиммунную атаку печени, приводя к росту титра специфических аутоантител, которые играют роль биогенных ингибиторов АлДГ. Уменьшение активности АлДГ при КТТ ведет к накоплению

высокотоксичных альдегидов в крови и органах и способствует развитию ЭИ [160; 840].

При КТТ по сравнению с показателями здоровых животных в крови для АлДГ Кт увеличилось,  $V_{max}$  уменьшилась на 1, 7, 10 сутки,  $V_{max}/Kt$  в эритроцитах, тромбоцитах и плазме крови снизилась на 1 сутки в 4,3 раза ( $p<0,001$ ), в 3,0 раза ( $p<0,001$ ), в 3,7 раза ( $p<0,001$ ), 7 сутки – в 3,6 раза ( $p<0,001$ ), в 2,8 раза ( $p<0,001$ ), в 3,6 раза ( $p<0,001$ ), 10 сутки – также в 3,6 раза ( $p<0,001$ ), в 2,6 раза ( $p<0,001$ ), в 3,2 раза ( $p<0,001$ ) (табл. 41). При этом Кт для АлДГ у здоровых крыс в тромбоцитах и эритроцитах было практически одинаковое. Кт для АлДГ плазмы интактных животных ниже Кт АлДГ эритроцитов и тромбоцитов. Установлено, что АлДГ эритроцитов крови интактных крыс по своим кинетическим показателям сходна с АлДГ митохондрий печени [352].

Таблица 41

Кинетические показатели альдегиддегидрогеназы в крови крыс с комбинированной термической травмой

Кинетический показатель		здоровые животные	животные с КТТ		
			1 сутки	7 сутки	10 сутки
Эритроциты	Кт, мин	1,24±0,09	2,36±0,34*	2,18±0,15*	2,19±0,21*
	$V_{max}$ , мкмоль/мин	5,46±0,75	2,44±0,28*	2,63±0,17*	2,67±0,14*
	$V_{max}/Kt$ , кмоль/мин <sup>2</sup>	4,40±0,32	1,03±0,07*	1,21±0,08*	1,22±0,06*
Тромбоциты	Кт, мин	1,20±0,06	2,58±0,33*	2,50±0,13*	2,36±0,15*
	$V_{max}$ , мкмоль/мин	4,82±0,21	3,47±0,26*	3,58±0,24*	3,61±0,30*
	$V_{max}/Kt$ , кмоль/мин <sup>2</sup>	4,02±0,18	1,34±0,11*	1,43±0,09*	1,53±0,12*
Плазма	Кт, мин	1,09±0,08	1,94±0,03*	1,96±0,04*	1,78±0,06*
	$V_{max}$ , мкмоль/мин	5,28±0,37	2,56±0,15*	2,62±0,10*	2,73±0,11*
	$V_{max}/Kt$ , кмоль/мин <sup>2</sup>	4,84±0,52	1,32±0,22*	1,34±0,09*	1,53±0,18*

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p<0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ ( $p<0,05$ ); \*\*\* - различия статистически значимы по сравнению с 7 сутками КТТ ( $p<0,05$ ).

Ингибирование удельной активности АлДГ в субклеточных фракциях печени, почках и легких при КТТ обусловлено снижением сродства фермента к субстрату и  $V_{max}/Kt$ . При этом во всех исследуемых паренхиматозных органах крыс с КТТ выявлено снижение  $V_{max}$  (табл. 42).

Таблица 42

Кинетические показатели альдегиддегидрогеназы в субклеточных фракциях органов крыс с комбинированной термической травмой

Орган	Субклеточная фракция	Кинетический показатель	здоровые животные	животные с КТТ		
				1 сутки	7 сутки	10 сутки
Печень	Гомогенат	Кт, мин	1,12±0,05	3,15±0,08*	2,97±0,14*	2,86±0,13*

	Цитозоль	Vmax, мкмоль/мин	7,54±0,63	2,64±0,50*	3,38±0,20*	3,50±0,20*/**	
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	6,73±0,47	0,84±0,03*	1,14±0,06*/**	1,22±0,03*/**	
		Kt, мин	1,08±0,09	2,48±0,20*	2,39±0,09*	1,99±0,14*/***	
	Митохондрии	Vmax, мкмоль/мин	6,95±0,52	3,71±0,12*	3,64±0,18*	3,80±0,15*	
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	6,44±0,38	1,49±0,06*	1,52±0,11*	1,91±0,05*/**/**	
		Kt, мин	1,18±0,07	3,05±0,21*	2,64±0,13*	2,52±0,21*	
	Почки	Гомогенат	Vmax, мкмоль/мин	7,34±0,16	4,13±0,15*	4,37±0,22*	4,89±0,17*/**
			Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	6,22±0,30	1,35±0,13*	1,66±0,08*	1,94±0,06*/**
			Kt, мин	1,62±0,11	3,87±0,30*	3,39±0,24*	2,86±0,12*/**/**
цитозоль		Vmax, мкмоль/мин	3,28±0,22	1,25±0,13*	1,41±0,07*	1,72±0,16*	
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	2,03±0,09	0,32±0,05*	0,42±0,04*	0,60±0,03*/**/**	
		Kt, мин	1,59±0,10	3,64±0,24*	3,58±0,25*	3,23±0,11*	
Митохондрии		Vmax, мкмоль/мин	4,21±0,14	2,27±0,16*	2,39±0,17*	2,39±0,14*	
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	2,65±0,23	0,62±0,04*	0,67±0,04*	0,83±0,06*	
		Kt, мин	1,66±0,06	2,99±0,17*	2,71±0,19*	2,65±0,22*	
Сердце	Гомогенат	Vmax, мкмоль/мин	3,27±0,25	1,17±0,07*	1,24±0,05*	1,53±0,07*/**	
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	1,97±0,04	0,39±0,02*	0,46±0,02*	0,58±0,03*/**	
		Kt, мин	2,03±0,10	2,13±0,08	2,18±0,07	1,95±0,06	
	цитозоль	Vmax, мкмоль/мин	12,58±0,47	5,72±0,31*	6,59±0,41*	6,97±0,15*/**	
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	6,19±0,23	2,69±0,15*	3,02±0,11*	3,57±0,09*/**	
		Kt, мин	2,46±0,12	2,51±0,20	2,41±0,10	2,39±0,12	
	Митохондрии	Vmax, мкмоль/мин	13,05±0,33	7,24±0,26*	7,35±0,23*	8,04±0,17*/**	
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	5,31±0,16	2,88±0,09*	3,05±0,08*	3,36±0,10*/**	
		Kt, мин	2,23±0,09	2,31±0,05	2,27±0,06	2,19±0,07	
легкие	Гомогенат	Vmax, мкмоль/мин	13,15±0,38	6,14±0,32*	6,58±0,19*	7,05±0,23*/**	
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	5,89±0,15	2,66±0,13*	2,89±0,15*	3,22±0,11*/**	
		Kt, мин	1,71±0,08	4,01±0,17*	3,57±0,20*	3,18±0,08*/**	
	цитозоль	Vmax, мкмоль/мин	4,66±0,20	3,11±0,07*	3,29±0,12*	3,44±0,14*/**	
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	2,73±0,07	0,78±0,03*	0,92±0,04*	1,08±0,05*/**	
		Kt, мин	1,66±0,05	3,89±0,14*	3,64±0,22*	3,52±0,13*	
	Митохондрии	Vmax, мкмоль/мин	5,01±0,12	2,47±0,09*	2,51±0,08*	2,86±0,07*/**/**	
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	3,02±0,06	0,63±0,02*	0,69±0,03*	0,81±0,03*/**	
		Kt, мин	1,75±0,03	3,37±0,12*	3,28±0,14*	2,93±0,09*/**/**	
		Vmax, мкмоль/мин	4,82±0,39	2,45±0,08*	2,66±0,07*	3,11±0,10*/**/**	
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	2,75±0,11	0,73±0,03*	0,81±0,05*	1,06±0,08*/**/**	
		Kt, мин					

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p<0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ ( $p<0,05$ ); \*\*\* - различия статистически значимы по сравнению с 7 сутками КТТ ( $p<0,05$ ).

Таким образом, снижение удельной активности АлДГ в крови и субклеточных фракциях легких, печени и почек происходило по типу двухпараметрически согласованного ингибирования, в сердце – по типу каталитического ингибирования. КТТ привела к перераспределению общей активности АлДГ. Характер возникающих изменений АлДГ зависел от органа и определялся временем после ожога.

### 3.1.7.1. Особенности регуляции альдегиддегидрогеназы эритроцитов крыс в норме и при комбинированной термической травме

Показано, что  $Mg^{2+}$  повысил активность АлДГ эритроцитов интактных крыс на 93,89% ( $p=0,013$ ). При КТТ в присутствии  $Mg^{2+}$  активность АлДГ также возросла и по сравнению с показателем при КТТ (на 1 сутки – в 3,12 раза ( $p<0,001$ ), на 7 сутки – в 3,14 раза ( $p<0,001$ ), на 10 сутки – в 2,96 раза

( $p < 0,001$ ), и по сравнению со здоровыми крысами (на 1 сутки после КТТ – на 46,39% ( $p = 0,035$ ), на 7 сутки – на 52,54% ( $p = 0,026$ ), на 10 сутки – на 72,28% ( $p = 0,012$ )) (табл. 43). Тот факт, что ионы  $Mg^{2+}$  увеличивают активность АлДГ эритроцитов и митохондриального изофермента печени, подтверждает сходство АлДГ эритроцитов с митохондриальной АлДГ как по кинетическим показателям, так и по своим регуляторным свойствам [357].

Для выяснения возможного механизма действия  $Mg^{2+}$  на активность АлДГ проведен опыт с тетурамом, ингибитором АлДГ. Показано, что тетурам снизил активность АлДГ на 28,57% ( $p = 0,028$ ). Тетурам, как полагают некоторые авторы [33; 58], блокирует сульфгидрильные группы ферментов, при этом 2 SH-группы присутствуют в активном центре АлДГ, с которыми взаимодействует альдегид с формированием тиополуацеталей [352; 609; 717].

Таблица 43

Удельная активность альдегиддегидрогеназы в крови здоровых крыс и животных с комбинированной термической травмой под воздействием  $Mg^{2+}$

Условия эксперимента	АлДГ, нмоль НАДН/мин×мг белка
Здоровые крысы	22,359±0,947
КТТ, 1 сутки	10,491±0,305*
КТТ, 7 сутки	10,862±0,411*
КТТ, 10 сутки	13,014±0,228**/**/***
Здоровые крысы+ $MgCl_2$	43,354±1,462*
Здоровые крысы+( $MgCl_2$ +тетурам)	49,189±2,013* / £
Здоровые крысы+ $MgCl_2$ +тетурам	35,774±1,252* / £
Здоровые крысы+тетурам+ $MgCl_2$	44,718±2,356*
Здоровые крысы+тетурам	15,971±1,063*
КТТ+ $MgCl_2$ , 1 сутки	32,731±2,056**/**
КТТ+ $MgCl_2$ , 7 сутки	34,107±1,825**/**
КТТ+ $MgCl_2$ , 10 сутки	38,521±1,437* / # / ∞ / ¥

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ); \*\*\* - различия статистически значимы по сравнению с 7 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ); # - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ); ∞ - различия статистически значимы по сравнению с 1 сутками КТТ в присутствии магния ( $p < 0,05$ ); ¥ - различия статистически значимы по сравнению с 7 сутками КТТ в присутствии магния ( $p < 0,05$ ); £ - различия статистически значимы по сравнению с показателем группы «здоровые крысы+ $MgCl_2$ » ( $p < 0,001$ ).

Одновременное присутствие в инкубационной среде  $MgCl_2$  и тетурама с дальнейшей инкубацией 30 мин также привело к росту активности АлДГ интактных крыс в 2,19 раза ( $p < 0,001$ ). Добавление в инкубационную среду  $MgCl_2$  после предварительной 30-минутной инкубации гемолизата

эритроцитов с тетурамом вызвало повышение активности АлДГ в 2 раза ( $p < 0,001$ ). Поскольку тетурам связывается в активном центре фермента, то внесение  $MgCl_2$  в реакционную среду после инкубации эритроцитов с тетурамом активировало АлДГ, вероятно, в результате конформационных перестроек АлДГ таким образом, что активные центры стали доступны для альдегида. При добавлении в инкубационную среду тетурама после предварительной 30-минутной инкубации эритроцитов с  $MgCl_2$  активность АлДГ возросла на 59,99% ( $p < 0,001$ ) [357].

Возможно, активность АлДГ возрастает под влиянием  $MgCl_2$  путем изменения конформации фермента в результате связывания магния в аллостерических центрах АлДГ, пространственно удаленных от активных центров, что влечет за собой изменение каталитических характеристик и активных центров АлДГ. Таким образом, ионы  $Mg^{2+}$  повышают активность АлДГ либо путем изменения свойств аллостерических и, как следствие, активных центров фермента, выступая аллостерическими активаторами АлДГ, либо изменением числа функционирующих активных центров [357].

### **3.1.7.2. Топохимия альдегиддегидрогеназы эритроцитов крови**

Эритроцит является одной из наиболее изученных клеточных моделей. Особенности регуляции АлДГ эритроцита в литературе представлены фрагментарно [482; 589; 595; 728; 729], так и не известна роль взаимодействия АлДГ с мембраной эритроцитов. В основном все ферменты, в том числе внутриклеточные, не функционируют в соответствии с классической кинетикой Михаэлиса-Ментен, так как находятся в сложной гетерогенной системе клетки, приобретая новые свойства [131]. Проведенные исследования показали, что активность АлДГ в «тенях» эритроцитов (мембраны клеток) составила 53% от общей активности АлДГ гемолизата клеток, а в матриксе эритроцитов – 47% (табл. 44, рис. 46).

Поскольку активность АлДГ во фракции «теней» эритроцитов выше, чем в матриксе, следовательно, АлДГ, главным образом, – мембраносвязанный фермент. И в следующем исследовании оценивали

прочность связи АлДГ с мембраной эритроцита [131]. Однократное воздействие на фрагменты мембран эритроцитов 0,15М раствором КСl привело к снижению удельной активности АлДГ в «тених» данных клеток на 39,5% ( $p=0,019$ ), и, соответственно, обнаружению активности АлДГ в супернатанте, полученном после центрифугирования. Однократная солюбилизация мембраносвязанной АлДГ эритроцитов 0,3М раствором КСl вызвала увеличение активности АлДГ в супернатанте на 26,4% ( $p=0,034$ ) по сравнению с показателем активности АлДГ в супернатанте после солюбилизации 0,15М раствором КСl и уменьшение в «тених» эритроцитов на 49,1% ( $p=0,012$ ) по сравнению с активностью АлДГ в «тених» до солюбилизации (табл. 45). В таблице 46 представлена кинетическая характеристика АлДГ различных фракций эритроцита:  $K_t$  и  $V_{max}/K_t$  мембраносвязанной АлДГ («тени» эритроцитов) выше, чем у АлДГ матрикса и гемолизата эритроцитов [131].

Таблица 44

Распределение активности АлДГ во фракциях эритроцитов крови крыс

Фракции эритроцита	Активность фермента, нмольНАДН/мин×мг белка
Гемолизат эритроцитов	19,59 ± 1,26
Матрикс эритроцитов	8,84 ± 0,63
«Тени» эритроцитов	10,05 ± 0,54



Рис. 46. Распределение активности альдегиддегидрогеназы (нмоль НАДН/мин×мг белка) во фракциях эритроцитов крови крыс

Таблица 45

Активность альдегиддегидрогеназы (нмольНАДН/мин×мг белка) после солюбилизации с мембраны эритроцитов под влиянием 0,15М и 0,3М КСl

Условия эксперимента	Супернатант	«Тени» эритроцитов
До солюбилизации	—	10,05 ± 0,54
После солюбилизации 0,15М раствором КСl	3,57 ± 0,41	6,07 ± 0,77 *
После солюбилизации 0,3М раствором КСl	4,51 ± 0,29**	5,11 ± 0,38 *

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с показателем активности АлДГ до солюбилизации ( $p<0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по

сравнению с показателем активности АлДГ в супернатанте после солиubilизации 0,15М раствором КСl ( $p < 0,05$ ).

Использование КСl для солиubilизации АлДГ с мембраны эритроцитов позволило выявить определенную закономерность в изменении кинетической характеристики АлДГ. По мере удаления части АлДГ с мембраны эритроцитов, сродство фермента к субстратам реакции возрастает (табл. 47). При этом в супернатанте значение  $K_t$ , наоборот, растет. Следовательно, АлДГ может быть лабильно- или прочно связана с мембраной эритроцита, что подтверждают данные по солиubilизации КСl (0,15М и 0,3М) [131].

Таблица 46

Кинетические характеристики альдегиддегидрогеназы различных фракций эритроцитов крови крыс

Фракции эритроцита	$K_t$ , мин	$V_{max}$ , мкмоль/мин	$V_{max}/K_t$ , кмоль/мин <sup>2</sup>
Гемолизат эритроцитов	$1,20 \pm 0,17$	$4,38 \pm 0,26$	$3,65 \pm 0,42$
«Тени» эритроцитов	$0,54 \pm 0,08$ *	$5,85 \pm 0,71$ *	$10,83 \pm 1,09$ *
Матрикс эритроцитов	$0,87 \pm 0,04$ */**	$5,40 \pm 0,39$ *	$6,21 \pm 0,87$ */**

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с показателем в гемолизате эритроцитов ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с показателем «теней» эритроцитов ( $p < 0,05$ ).

Таблица 47

Кинетические характеристики альдегиддегидрогеназы после солиubilизации с мембраны эритроцитов под влиянием 0,15М и 0,3М КСl

Фракции эритроцита	$K_t$ , мин	$V_{max}$ , мкмоль/мин	$V_{max}/K_t$ , кмоль/мин <sup>2</sup>
«Тени» эритроцитов	До солиubilизации	$0,54 \pm 0,08$	$5,85 \pm 0,71$
	0,15М КСl	$0,43 \pm 0,05$	$6,94 \pm 0,18$
	0,3М КСl	$0,36 \pm 0,04$	$7,15 \pm 0,09$ *
Супернатант	0,15М КСl	$0,65 \pm 0,04$	$6,56 \pm 0,26$
	0,3М КСl	$0,72 \pm 0,05$	$6,54 \pm 0,35$

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с кинетическим показателем до солиubilизации ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с показателем после солиubilизации 0,15М КСl ( $p < 0,05$ ).

Исходя из полученных данных АлДГ присутствует в эритроцитах, вероятно, в 3-х надмолекулярных формах: матриксная; лабильно связанная с мембраной; прочно связанная с мембраной. Таким образом, различные надмолекулярные формы АлДГ характеризуются определенной топохимической организацией в эритроцитах крови, что важно для регуляции АлДГ в клетке [131].

**3.1.7.3. Выделение, частичная очистка, изучение свойств альдегиддегидрогеназы печени крыс в норме и при ожоге**

На фоне содержания АлДГ во многих тканях млекопитающих, наибольшая активность фермента характерна для клеток печени [358; 883]. В настоящее время в литературе имеются данные относительно каталитических свойств фермента из тканей животных [168; 661; 804] и человека [814; 817; 840] в условиях нормы. Однако особенности функционирования АлДГ при ТТ остаются недостаточно исследованными. Изучению каталитических свойств ферментов предшествует процедура их выделения.

Результаты выделения и частичной очистки АлДГ из печени интактных крыс и животных с ожогом приведены в таблице 48. Использование фракционирования сульфатом аммония и анионообменной хроматографии на ДЭАЭ-целлюлозе позволило получить ферменты АлДГ со степенью очистки 11,03 (у интактных крыс) и 10,91 (у крыс с ожогом). Выход фермента составил у здоровых крыс 45,25%, при КТТ – 40,82% [358; 363].

Таблица 48

Результаты очистки альдегиддегидрогеназы из печени здоровых крыс и крыс с термической травмой

Стадия очистки	Условия опыта	Общая активность, нмоль НАДН/мин×мл	Количество белка, мг/мл	Удельная активность, нмоль НАДН/мин×мг белка	Выход, %	Степень очистки
Гомогенат	здоровые крысы	30,491±2,405	0,390±0,009	78,182±3,109	100,0	1,00
	ожог	17,831±1,096*	0,401±0,012	44,466±2,315*	100,0	1,00
Фракционирование (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	здоровые крысы	24,789±1,765	0,069±0,005	359,261±9,217	81,30	4,60
	ожог	14,438±0,981*	0,081±0,007	178,247±5,638*	80,97	4,10
Хроматография на сефадексе G-25	здоровые крысы	21,779±2,117	0,028±0,003	777,821±16,983	71,43	9,95
	ожог	10,873±1,098*	0,027±0,002	402,704±11,015*	60,98	9,06
Хроматография на ДЭАЭ-целлюлозе	здоровые крысы	13,797±1,123	0,016±0,001	862,313±19,384	45,25	11,03
	ожог	7,278±0,836*	0,015±0,001	485,200±10,129*	40,82	10,91

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению со здоровыми крысами (p<0,05).

Исходная общая активность АлДГ (гомогенат) при КТТ была ниже на 41,52% (p=0,014) по сравнению с показателем здоровых крыс. Удельная активность АлДГ у животных с КТТ также превысила показатель здоровых крыс на 43,13% (p=0,011) на фоне одинакового содержания белка в исследуемых образцах. Падение общей активности АлДГ у крыс с КТТ, возможно, связано с уменьшением доли фермента в каталитически активном

состоянии и увеличением содержания высокотоксичных соединений, взаимодействующих с ферментом, переводя его в новое конформационное состояние со сниженным сродством к субстратам реакции [358; 363].

При использовании ионообменной хроматографии на рис. 47 и 48 приведены профили элюции и общая активность АлДГ интактных животных, на рис. 49, 50 – профили элюции АлДГ животных с ТТ. Анализ собранных фракций показал, что максимальное количество белка и пик активности АлДГ у интактных крыс приходится на пробирку № 9, у крыс с ТТ – на пробирку № 7. На следующем этапе исследовали субстратную специфичность частично очищенной АлДГ [358; 804]. Используя различные субстраты (алифатические с различной длиной углеродного скелета, ароматические), максимальная активность АлДГ у интактных крыс и животных с КТТ отмечена при окислении циклического альдегида – салицилового, несколько меньшая – при утилизации альдегида с относительно большим алифатическим радикалом – глутарового. Значительно медленнее шло превращение бензальдегида (ароматический альдегид) [358], формальдегида и ацетальдегида (табл. 49).

Таблица 49

## Субстратная специфичность альдегиддегидрогеназы при термической травме

Условия эксперимента	Активность АлДГ (мкмоль НАДН/мин×мг белка) с различными субстратами				
	Глутаровый альдегид	Ацетальдегид	Салициловый альдегид	Бензальдегид	Формальдегид
здоровые крысы	7,22±0,22	0,073±0,001	7,92±1,28	0,35±0,01	0,13±0,01
ожог	4,62±0,69*	0,040±0,001*	5,70±0,02*	0,25±0,01*	0,03±0,01*

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с показателем здоровых крыс ( $p < 0,05$ ).

Известно, что АлДГ существует, как минимум в двух кинетических формах: с высоким и низким сродством к субстратам реакции. Фермент с наибольшим сродством к ацетальдегиду ( $K_m$  3  $\mu$ M) локализован в митохондриях, следовательно, это объясняет полученную нами низкую активность АлДГ в частично очищенном цитозольном препарате фермента с использованием в качестве субстрата ацетальдегида.

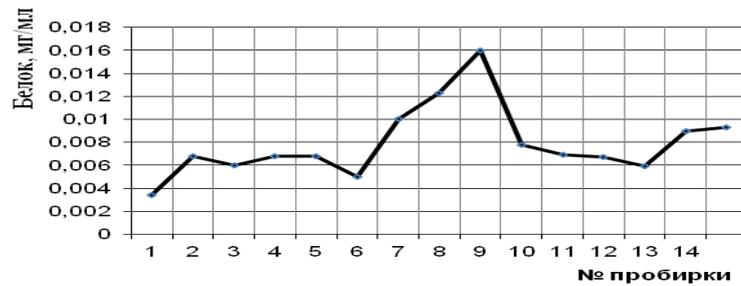


Рис. 47. Профиль элюции белков на ДЭАЭ-целлюлозе (интактные животные)

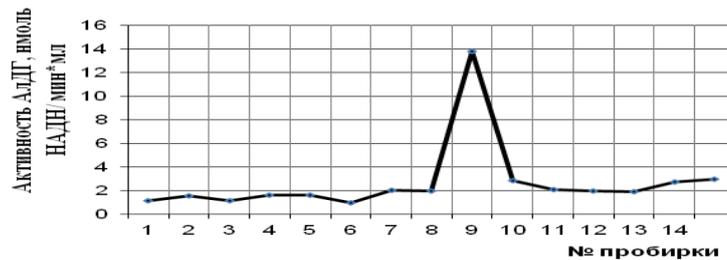


Рис. 48. Общая активность АлДГ здоровых крыс

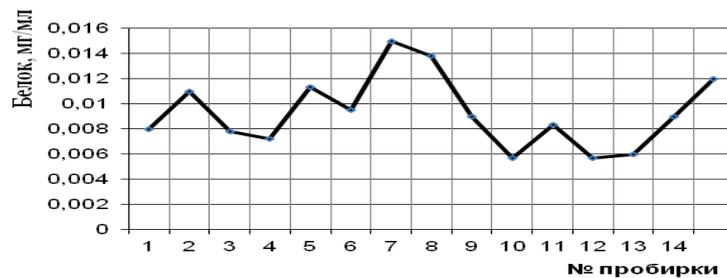


Рис. 49. Профиль элюции белков на ДЭАЭ-целлюлозе (животные с КТТ)

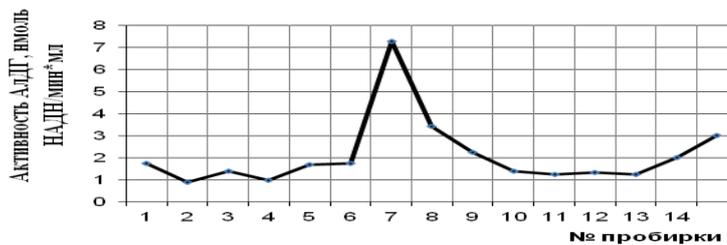


Рис. 50. Общая активность АлДГ крыс с КТТ после хроматографии на ДЭАЭ-целлюлозе

Из таблицы 49 видно, что при КТТ активность частично очищенного препарата АлДГ снизилась по сравнению с показателем здоровых крыс при использовании различных альдегидов в качестве субстрата: с глутаровым альдегидом – на 36,0%, с ацетальдегидом – на 45,0%, с салициловым альдегидом – на 28,0%, с бензальдегидом – на 28,6%, с формальдегидом – на

77,0%. Уменьшение активности по отношению ко всем субстратам, очевидно, связано с падением общей активности фермента при ТТ [358; 363].

Показано, что  $K_t$  для АлДГ возросло при КТТ с использованием глутарового альдегида в 2,6 раза ( $p < 0,001$ ), ацетальдегида – в 2,8 раза ( $p < 0,001$ ), салицилового альдегида – на 59% ( $p = 0,011$ ), бензальдегида – в 5,95 раза ( $p < 0,001$ ), формальдегида – в 5,1 раза ( $p < 0,001$ ), свидетельствуя о снижении сродства к ним АлДГ при КТТ (табл. 50) [358].

Таблица 50

Кинетические показатели альдегиддегидрогеназы, выделенной из печени интактных крыс и крыс с ожогом, с использованием в качестве субстратов различных альдегидов

Условия эксперимента	Показатель	Субстраты альдегиддегидрогеназы				
		Глутаровый альдегид	Ацет-альдегид	Салициловый альдегид	Бенз-альдегид	Форм-альдегид
здоровые крысы	$K_t$ , мин	0,61±0,01	1,12±0,05	2,09±0,12	0,41±0,03	0,34±0,01
	$V_{max}$ , мкмоль/мин	4,86±0,05	7,54±0,63	8,73±1,48	3,43±0,21	2,68±0,15
	$V_{max}/K_t$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	7,97±0,83	6,73±0,47	4,18±0,32	8,37±0,54	7,88±0,27
ожог	$K_t$ , мин	1,56±0,03*	3,15±0,28*	3,34±0,12*	2,44±0,09*	1,75±0,17*
	$V_{max}$ , мкмоль/мин	1,73±0,02*	2,64±0,50*	2,76±0,50*	1,59±0,07*	1,12±0,03*
	$V_{max}/K_t$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	1,11±0,02*	0,84±0,03*	0,83±0,02*	0,65±0,01*	0,64±0,03*

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению со здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ).

Наибольшей каталитической эффективностью обладала АлДГ с использованием в качестве субстрата глутарового альдегида [358]. У животных с КТТ отмечено снижение  $V_{max}$  и  $V_{max}/K_t$  при использовании всех исследуемых альдегидов. Таким образом, показано, что АлДГ окисляет глутаровый альдегид, ацетальдегид, салициловый альдегид, бензальдегид, формальдегид. Как у интактных крыс, так и животных с КТТ максимальная активность АлДГ отмечена при утилизации салицилового и глутарового альдегидов [358].

### 3.1.7.4. Генетические изменения активности альдегиддегидрогеназы после термической травмы

Показано, что через 6 месяцев после ожога по сравнению с показателями здоровых животных удельная активность АлДГ в печени и эритроцитах была ниже в 13,4 раза ( $p < 0,001$ ) (табл. 51) и в 59,0 раз ( $p < 0,001$ ) (табл. 52) на фоне изменения кинетических показателей АлДГ.

Таблица 51

### Активность альдегиддегидрогеназы в гомогенате печени крыс с комбинированной термической травмой и их поколений [353]

Показатель	Группа животных			
	Контрольная	I	II	III
АлДГ, нмоль НАДН/мин×мг белка	73,129±2,535	5,457±0,238*	11,608±0,573 */**	15,225±1,047 */**/**
Kt, мин	1,12±0,05	2,54±0,20*	2,37±0,13*	2,29±0,15*
Vmax, мкмоль/мин	7,54±0,63	3,68±0,23*	3,85±0,76*	3,76±0,18*
Vmax/Kt, кмоль/мин <sup>2</sup>	6,73±0,47	1,45±0,08*	1,62±0,09*	1,64±0,07*

Примечание: контрольная группа – интактные животные без ожога; I группа – животные через 6 месяцев после ТТ; II группа – I поколение (в возрасте 6 месяцев) животных с ТТ; III группа – II поколение (в возрасте 6 месяцев) животных с ТТ (p<0,05); \* – различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой (p<0,05); \*\* – различия статистически значимы по сравнению с I группой (p<0,05); \*\*\* – различия статистически значимы между II и III группами (p<0,05) [359].

Таблица 52

### Каталитические и кинетические свойства альдегиддегидрогеназы в эритроцитах крыс с комбинированной термической травмой и их поколений

Показатель	Группа животных			
	Контрольная	I	II	III
АлДГ, нмоль НАДН/мин×мг белка	22,359±0,947	0,379±0,015*	2,274±0,153 */**	1,338±0,247 */**/**
Kt, мин	1,24±0,09	2,07±0,14*	1,96±0,08*	1,97±0,06*
Vmax, мкмоль/мин	5,46±0,75	3,14±0,22*	3,02±0,17*	2,85±0,24*
Vmax/Kt, кмоль/мин <sup>2</sup>	4,40±0,32	1,52±0,05*	1,54±0,04*	1,45±0,03*

Примечание: контрольная группа – интактные животные без ожога; I группа – животные через 6 месяцев после ТТ; II группа – I поколение (в возрасте 6 месяцев) животных с ТТ; III группа – II поколение (в возрасте 6 месяцев) животных с ТТ (p<0,05); \* – различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой (p<0,05); \*\* – различия статистически значимы по сравнению с I группой (p<0,05); \*\*\* – различия статистически значимы между II и III группами (p<0,05) [353; 359].

В I и II поколениях крыс с КТТ активность АлДГ возросла по сравнению с исходным показателем при ТТ, при этом удельная активность АлДГ в печени у I и II поколения оказалась ниже активности фермента здоровых крыс в 6,3 раза (p<0,001) и в 4,8 раза (p<0,001) соответственно. Активность АлДГ печени у II поколения крыс была выше исходной активности АлДГ при КТТ в 2,8 раза (p<0,001) и активности АлДГ I поколения крыс на 31,16% (p=0,023) [353; 359].

Итак, активность АлДГ печени в последующих поколениях крыс с КТТ возросла, но не достигла показателей здоровых животных, что может быть обусловлено влиянием КТТ на гены АлДГ, на синтез белка. Известны нарушения метаболизма и выявлены клинические проявления, связанные с мутациями генов АлДГ1, АлДГ2, АлДГ4, АлДГ10 [353; 359; 883], так как

изменение каталитических свойств АлДГ вызывает нарушение обмена веществ, приводя к накоплению альдегидов. Было отмечено, что животные I и II поколений более слабые, менее выносливые, подвержены заболеваниям, с уродствами глаз, зубов у животных II поколения.

В эритроцитах также удельная активность АлДГ крыс I поколения возросла относительно исходной активности АлДГ при КТТ в 6 раз ( $p < 0,001$ ), но была ниже показателя здоровых крыс в 9,8 раза ( $p < 0,001$ ). Удельная активность АлДГ II поколения была меньше активности АлДГ I поколения крыс и крыс здоровых соответственно на 41,16% ( $p = 0,019$ ) и в 16,7 раза ( $p < 0,001$ ) [353; 359]. В эритроцитах крови больных с ТТ через 6-12 месяцев после поражения также отмечено снижение активности АлДГ по сравнению со здоровыми людьми в 2,10 раза ( $p < 0,001$ ) (табл. 53).

Таблица 53

Активность альдегиддегидрогеназы в эритроцитах крови здоровых людей и больных с термической травмой

Показатель	Здоровые люди	Ожог	Ожог спустя 6–12 месяцев
АлДГ, нмоль НАДН/мин×мг белка	22,673±3,018	5,846±0,235 *	10,754±1,022 *

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению со здоровыми людьми [361]

Следовательно, в результате ожога снизилась активность АлДГ. Дефицит фермента отмечался не только сразу после ожога, но и спустя 6 месяцев после травмы, а также в I, и во II поколениях ожоговых крыс, что свидетельствует о приобретенной энзимопатии АлДГ после КТТ [353; 359].

### Выводы по главе 3.1.

1. При КТТ выявлена интенсификация СРО в паренхиматозных органах (легкие > сердце > печень > почки) на фоне снижения показателей АОС. На 1 сутки после КТТ отмечено максимальное повышение СРО в субклеточных фракция всех органов (в легких и сердце – в цитозоле, в печени и почках – в митохондриях) и наибольшее снижение в крови ОАА, удельной активности каталазы, ГР, Гл-6-фДГ. Среди исследуемых ферментов АОС в эритроцитах отмечено наибольшее ингибирование каталазы на 1 и 10 сутки после КТТ. Максимальное ингибирование СОД происходило на 7 сутки после КТТ.

2. У здоровых животных и животных с КТТ основная активность каталазы, ГР и Гл-6-фДГ обнаружена в цитоплазматической фракции органов, основная активность СОД – в митохондриях на фоне более низкой общей активности ферментов АОС во всех фракциях печени, почек, сердца и легких при КТТ. КТТ привела к перераспределению общей активности оксидоредуктаз, характер изменения каталитических свойств которых зависел от органа и периода после ожога.

3. Максимальное ингибирование АОС (ОАА, СОД, каталазы, ГР, Гл-6-фДГ) выявлено в печени и легких на 1 сутки после КТТ. В почках на 1 сутки после КТТ отмечено максимальное снижение ОАА и каталазы, в сердце – каталазы, ГР, Гл-6-фДГ. При КТТ наибольшее уменьшение удельной активности СОД, ГР, Гл-6-фДГ в почках выявлено на 7 сутки, максимальное ингибирование СОД и ОАА – в сердце на 10 сутки. В легких и почках при КТТ наибольшее ингибирование характерно для каталазы, ГР, Гл-6-фДГ.

4. При КТТ для СОД характерно каталитическое (почки, сердце) и двухпараметрически согласованное (эритроциты, печень, легкие), для каталазы – ассоциативное (печень, почки, легкие) и двухпараметрически согласованное (эритроциты, сердце), для ГР – каталитическое (эритроциты, почки) и двухпараметрически согласованное (печень, сердце, легкие), для Гл-6-фДГ – каталитическое (эритроциты, почки, сердце) и двухпараметрически согласованное (печень, легкие) ингибирование.

5. Отмечено уменьшение активности СДГ (двухпараметрически согласованное ингибирование) и цитохром *c* оксидазы в митохондриях печени, почек, сердца и легких на 1, 7 и 10 сутки после КТТ. Снижение удельной активности цитохром *c* оксидазы в митохондриях почек, сердца и легких при КТТ происходило по типу двухпараметрически согласованного ингибирования, в митохондриях печени – по типу ассоциативного ингибирования. Наибольшее снижение активности СДГ и цитохром *c* оксидазы отмечено на 1 сутки после ожога.

6. Выявлено повышение глюкозы и лактата в плазме и эритроцитах после КТТ с максимальным ростом в эритроцитах на 7 сутки после КТТ. При КТТ отмечено снижение удельной активности ЛДГпр, ЛДГобр и КБЭР в паренхиматозных органах (печень, почки, сердце, легкие) на 1, 7 и 10 сутки после ожога. Максимальное уменьшение активности ЛДГ происходило в период ожогового шока (1 сутки после КТТ). Наибольшее снижение ЛДГпр и КБЭР при КТТ и, следовательно, накопление лактата наблюдалось в печени. Органы в порядке уменьшения в них удельной активности ЛДГпр и КБЭР при КТТ (по гомогенату) располагались: печень>почки>легкие>сердце.

7. Снижение удельной активности ЛДГпр и ЛДГобр в субклеточных фракциях печени и почек при КТТ происходило по типу ассоциативного ингибирования, в крови, субклеточных фракциях сердца и легких – по типу двухпараметрически согласованного ингибирования.

8. Установлено снижение удельной активности АДГпр, АДГобр и повышение АДГпр/АДГобр в гомогенате, цитозоле и митохондриях печени, почек, сердца и легких на 1, 7 и 10 сутки после КТТ. Максимальное снижение АДГ при КТТ выявлено в печени крыс. Наибольшее падение удельной активности АДГпр и АДГобр во всех субклеточных фракциях печени отмечалось на 7 сутки после КТТ, в гомогенате, цитозоле и митохондриях почек, сердца и легких на 1 сутки после КТТ. Максимальное увеличение АДГпр/АДГобр отмечено в печени и почках крыс с КТТ. Снижение удельной активности АДГпр и АДГобр в субклеточных фракциях печени и почек при КТТ происходило по типу двухпараметрически согласованного ингибирования, в гомогенате, цитозоле и митохондриях сердца и легких – каталитического ингибирования.

9. Установлено снижение удельной активности АлДГ в эритроцитах, тромбоцитах, плазме крови, гомогенате, цитозоле, митохондриях печени, почек, сердца, легких на 1, 7, 10 сутки после КТТ. Максимальное ингибирование АлДГ при КТТ выявлено на 1 сутки после КТТ в субклеточных фракциях всех исследуемых органов. Наибольшее уменьшение

удельной активности АлДГ при КТТ отмечено в митохондриях печени, почек, сердца и легких. Снижение удельной активности АлДГ в крови и субклеточных фракциях легких, печени и почек происходило по типу двухпараметрически согласованного, в сердце – каталитического ингибирования. КТТ привела к перераспределению общей активности АлДГ. Характер возникающих изменений АлДГ зависел от органа и определялся временем после ожога.

10. АлДГ в эритроцитах находилась в трех основных надмолекулярных формах: матриксная, лабильно и прочносвязанная с мембраной эритроцитов форма фермента, ионы  $Mg^{2+}$  являются активаторами АлДГ [131].

11. Из печени крыс получен частично очищенный препарат АлДГ в норме и при КТТ. Показана широкая субстратная специфичность АлДГ.

12. Дефицит АлДГ отмечался на 1-10 сутки, через 6 месяцев после КТТ, в I и II поколениях ожоговых крыс.

### **3.2. Обоснование возможности применения активных форм кислорода и азота на примере изменения активности оксидоредуктаз**

#### **3.2.1. Регуляция активности оксидоредуктаз под влиянием активных форм кислорода и азота в эксперименте *in vitro* (консервированная кровь)**

##### **3.2.1.1. Влияние NO от аппарата «Плазон» на каталитические свойства оксидоредуктаз**

Данные о метаболизме NO в крови, его аккумуляция элементами крови противоречивы. Основным переносчиком NO в кровеносном русле является Hb. Однако, по мнению одних авторов, проницаемость мембраны эритроцитов для NO невысока [665]. В других работах показано, что клеточная мембрана эритроцитов легко проницаема для NO и активно регулирует его транспорт [543]. Молекулы NO обладают высокими коэффициентами диффузии внутри эритроцита и с высокой аффинностью связываются с Hb [142]. Кроме того, нитраты являются пролекарствами. Реакция восстановления  $NO_3^- \rightarrow NO_2^- \rightarrow NO$  ингибируется в присутствии

кислорода, и при низкой концентрации  $O_2$  в среде нитраты восстанавливаются до NO [142; 195], т.е. NO образуется из  $NO_2^-$  при гипоксии, при которой преобладают нитритредуктазные процессы.

Сегодня открываются перспективные возможности фармакологической регуляции содержания NO в организме [379; 451]. В настоящее время применение NO в медицине осуществляется путем регуляции уровня субстрата (L-аргинина) [289], введения доноров NO [46; 49; 144; 386], индукторов/активаторов и ингибиторов изоформ NOS [407; 828] или ингаляцией NO [489; 542; 704]. NO может диффундировать и через раневую поверхность, и через неповрежденную кожу, слизистые оболочки [61].

Преимущество экзогенной NO-терапии с применением воздушно-плазменного аппарата «Плазон» в том, что осуществляется локальное воздействие путем подведения нужной концентрации NO к пораженному участку [61]. Полученные результаты показали, что под влиянием NO, генерируемого аппаратом «Плазон», концентрация лактата возросла в плазме и эритроцитах при использовании NO<sub>min</sub> на 7,03% (p=0,039) и 10,60% (p=0,036), NO<sub>max</sub> – на 16,95% (p=0,034) и 62,47% (p=0,013) соответственно по сравнению с контролем. Уровень лактата может быть повышен из-за адренергической стимуляции углеводного обмена. Концентрация глюкозы возросла в плазме и эритроцитах при использовании NO<sub>min</sub> на 6,01% (p=0,087) и 15,98% (p=0,033), при NO<sub>max</sub> – на 8,84% (p=0,042) и 49,16% (p=0,024) соответственно по сравнению с контролем (табл. 54).

Таблица 54

Концентрация лактата и глюкозы в консервированной крови под влиянием активных форм кислорода и азота

Условия эксперимента	Лактат, ммоль/л		Глюкоза, ммоль/л	
	плазма	эритроциты	Плазма	эритроциты
Интактная кровь – контроль	7,469±0,122	3,538±0,121	34,225±1,115	10,889±0,503
Кровь + физ. р-р	7,457±0,068	3,542±0,168	34,208±0,986	10,902±0,215
Кровь + NO (20 ppm)	6,009±0,037*	2,868±0,157*	25,924±1,067*	7,983±0,114*
Кровь + NO (50 ppm)	8,771±0,219*	3,739±0,096	33,965±2,008	10,214±0,348
Кровь + NO (100 ppm)	8,612±0,307*	4,269±0,207*	39,970±1,345*	11,425±0,401
Кровь + NO <sub>min</sub>	7,994±0,085*	3,913±0,085*	36,281±2,013	12,629±0,534*
Кровь + NO <sub>max</sub>	8,735±0,263*	5,748±0,223*	37,250±1,428*	16,242±1,005*
Кровь + СК (50%)	6,987±0,159*	3,540±0,202	28,864±0,993*	6,834±0,162*
Кровь + СК (100%)	6,860±0,207*	3,081±0,135*	25,445±1,162*	7,694±0,237*
Кровь + 0,0033 мл ДНКЖ	7,243±0,216	3,409±0,215	33,967±1,285	10,689±0,724

Кровь + 0,05 мл ДНКЖ	7,033±0,175*	3,306±0,042*	28,317±0,976*	6,359±0,134*
Кровь + 0,1 мл ДНКЖ	5,971±0,163*	2,782±0,069*	28,450±2,107*	6,181±0,305*
Кровь + 0,2 мл ДНКЖ	7,901±0,084*	3,999±0,154*	39,567±1,318*	10,265±0,411
Кровь + 1 мл ДНКЖ	8,290±0,155*	4,575±0,136*	40,639±1,322*	11,397±0,285

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ).

Отмечено снижение ЛДГпр, ЛДГобр, КБЭР под влиянием NOmin на 14,57% ( $p=0,028$ ), 4,87% ( $p=0,096$ ), 19,34% ( $p=0,031$ ), при NOmax – на 39,54% ( $p=0,012$ ), 18,17% ( $p=0,034$ ), 45,40% ( $p=0,010$ ) по сравнению с контролем (табл. 55). Снижение КБЭР свидетельствует об увеличении концентрации молочной кислоты в крови, которая образуется, главным образом, ЛДГобр.

Таблица 55

Удельная активность альдегиддегидрогеназы, лактатдегидрогеназы и коэффициент баланса энергетических реакций в консервированной крови под влиянием активных форм кислорода и азота

Условия эксперимента	ЛДГпр, нмоль НАДН/ мин×мг белка	ЛДГобр, нмоль НАДН/ мин×мг белка	КБЭР	АлДГ, нмоль НАДН/ мин×мг белка
Интактная кровь – контроль	60,492±2,135	267,593±8,214	5,108±0,056	31,864±1,527
Кровь + физ. р-р	60,518±1,697	267,608±6,355	5,111±0,102	31,859±2,003
Кровь + NO (20 ppm)	72,014±3,011*	285,346±3,942*	6,360±0,227*	47,771±2,134*
Кровь + NO (50 ppm)	86,435±3,218*	401,589±5,036*	4,628±0,095*	24,358±0,958*
Кровь + NO (100 ppm)	47,297±1,156*	242,687±4,195*	3,800±0,127*	17,129±1,046*
Кровь + NOmin	51,679±1,324*	254,638±5,247	4,120±0,204*	22,934±1,085*
Кровь + NOmax	36,571±1,678*	218,967±2,853*	2,789±0,153*	15,384±0,782*
Кровь + СК (50%)	60,624±2,509	270,014±5,062	5,052±0,217	33,325±1,159
Кровь + СК (100%)	75,233±3,012*	306,284±7,144*	6,043±0,098*	36,136±1,514*
Кровь + 0,0033 мл ДНКЖ	59,977±1,349	265,427±6,015	5,106±0,220	32,013±1,095
Кровь + 0,05 мл ДНКЖ	61,012±1,564	270,114±5,238	5,105±0,318	41,460±2,133*
Кровь + 0,1 мл ДНКЖ	79,729±2,186*	300,137±9,054*	7,067±0,159*	58,478±3,021*
Кровь + 0,2 мл ДНКЖ	90,124±3,013*	415,677±10,125*	4,705±0,163*	30,818±1,563
Кровь + 1 мл ДНКЖ	95,237±1,426*	447,895±4,636*	4,529±0,248*	25,205±1,404*

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ).

Несмотря на имеющиеся данные, посвященные действию органических нитратов, в частности, нитроглицерина, при патологии [72], характер высвобождения из них NO раскрыт неполно [651]. Установлено, что непосредственное участие в высвобождении NO принимает АлДГ, прежде всего, ее митохондриальная изоформа [688; 870]. NO ингибирует только очищенный препарат АлДГ [537; 826]. Характер воздействия NO на АлДГ обусловлен модификацией (оксидацией) Cys-302 активного центра фермента и зависит от продолжительности воздействия и концентрации NO. Присутствие в реакционной среде кислорода существенно снижает этот эффект [238; 537]. NO стимулирует АДФ-рибозозависимую

аутомодификацию цистеина. Подобный эффект наблюдается и в отношении очищенного фермента глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы [692].

Под влиянием NO-содержащей холодной плазмы, генерируемой аппаратом «Плазон», отмечено снижение активности АлДГ при использовании NO<sub>min</sub> на 28,02% (p=0,019), NO<sub>max</sub> – в 2,1 раза (p<0,001) по сравнению с контролем, что может привести к развитию КС (табл. 55). По сравнению с показателями интактной крови концентрация МДА возросла под влиянием NO<sub>min</sub> в эритроцитах на 12,51% (p=0,036), при NO<sub>max</sub> в плазме и эритроцитах – на 29,32% (p=0,027) и 23,82% (p=0,024) (табл. 56).

Таблица 56

Показатели свободнорадикального окисления в консервированной крови под влиянием активных форм кислорода и азота

Условия эксперимента	S в плазме, усл.ед.	S в эритроцитах, усл.ед.	МДА в плазме, мкмоль/л	МДА в эритроцитах, мкмоль/л
Интактная кровь – контроль	10,137±0,245	9,524±0,133	1,272±0,105	8,427±0,105
Кровь + физ. р-р	10,141±0,137	9,516±0,270	1,268±0,087	8,433±0,162
Кровь + NO (20 ppm)	8,684±0,302*	8,438±0,316*	0,830±0,026*	8,091±0,074*
Кровь + NO (50 ppm)	10,975±0,218*	9,973±0,185*	1,651±0,114*	9,153±0,116*
Кровь + NO (100 ppm)	11,752±0,503*	10,157±0,206*	1,897±0,105*	9,569±0,227*
Кровь + NO <sub>min</sub>	11,236±0,208*	11,008±0,372*	1,382±0,104	9,481±0,159*
Кровь + NO <sub>max</sub>	13,148±0,526*	11,356±0,241*	1,645±0,113*	10,434±0,307*
Кровь + СК (50%)	9,864±0,177	9,375±0,194	1,302±0,051	8,396±0,085
Кровь + СК (100%)	10,255±0,513	9,611±0,346	0,864±0,027*	6,610±0,310*
Кровь + 0,0033 мл ДНКЖ	10,096±0,407	9,499±0,216	1,285±0,116	8,439±0,305
Кровь + 0,05 мл ДНКЖ	11,534±0,362*	9,897±0,055*	1,259±0,143	8,505±0,042
Кровь + 0,1 мл ДНКЖ	10,112±0,198	9,436±0,148	0,979±0,062*	6,479±0,158*
Кровь + 0,2 мл ДНКЖ	11,864±0,451*	10,863±0,204*	1,475±0,067*	11,378±0,264*
Кровь + 1 мл ДНКЖ	12,975±0,382*	11,257±0,336*	2,000±0,056*	13,945±0,528*

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с контролем (p<0,05).

По данным биохемилюминесценции СРО возросло в плазме и эритроцитах при применении NO<sub>min</sub> на 10,84% (p=0,035) и 15,58% (p=0,026), при воздействии NO<sub>max</sub> СРО увеличилось в плазме на 29,70% (p=0,018), в эритроцитах – на 19,24% (p=0,027) по сравнению с контролем. При этом отмечено снижение ферментативной и неферментативной антиоксидантной защиты крови после применения холодной плазмы, содержащей NO. Под влиянием NO<sub>min</sub> ОАА уменьшилась на 12,67% (p=0,030), активность СОД, каталазы, ГР и Гл-6-фДГ снизилась на 5,87% (p=0,039), 16,67% (p=0,027), 20,27% (p=0,024), 18,43% (p=0,030) соответственно по сравнению с контролем. Применение NO<sub>max</sub> вызвало ингибирование ОАА, СОД,

каталазы, ГР и Гл-6-фДГ на 21,97% ( $p=0,028$ ), 10,65% ( $p=0,032$ ), 33,39% ( $p=0,018$ ), 30,65% ( $p=0,021$ ), 29,05% ( $p=0,023$ ) соответственно по сравнению с показателями интактной крови (табл. 57).

Таблица 57

Показатели антиоксидантной системы защиты в консервированной крови под влиянием активных форм кислорода и азота

Условия эксперимента	tg2 $\alpha$ , усл.ед.	СОД, %инг/мин $\times$ мг белка	Каталаза, мкмольН <sub>2</sub> О <sub>2</sub> /мин $\times$ мг белка	ГР, нмоль НАДФН/мин $\times$ мг белка	Гл-6-фДГ, нмоль НАДФН/мин $\times$ мг белка
Интактная кровь – контроль	0,742 $\pm$ 0,013	823,671 $\pm$ 13,024	38,542 $\pm$ 1,119	75,982 $\pm$ 2,041	54,261 $\pm$ 1,124
Кровь + физ. р-р	0,739 $\pm$ 0,022	819,954 $\pm$ 15,386	39,016 $\pm$ 2,034	76,054 $\pm$ 3,112	54,503 $\pm$ 0,946
Кровь+NO (20 ppm)	0,858 $\pm$ 0,030*	885,423 $\pm$ 10,250*	45,679 $\pm$ 1,963*	81,638 $\pm$ 1,087*	60,357 $\pm$ 0,715*
Кровь+NO (50 ppm)	0,703 $\pm$ 0,041	891,517 $\pm$ 11,032*	50,187 $\pm$ 3,025*	82,495 $\pm$ 2,009*	66,284 $\pm$ 2,351*
Кровь+NO(100 ppm)	0,669 $\pm$ 0,015*	744,259 $\pm$ 19,014*	31,024 $\pm$ 1,166*	62,184 $\pm$ 1,567*	41,195 $\pm$ 1,188*
Кровь + NOmin	0,648 $\pm$ 0,026*	775,361 $\pm$ 12,028*	32,118 $\pm$ 1,253*	60,577 $\pm$ 1,218*	44,263 $\pm$ 2,451*
Кровь + NOmax	0,579 $\pm$ 0,015*	736,219 $\pm$ 13,546*	25,673 $\pm$ 1,125*	52,695 $\pm$ 2,543*	38,497 $\pm$ 3,004*
Кровь + СК (50%)	0,739 $\pm$ 0,032	917,028 $\pm$ 22,007*	49,572 $\pm$ 3,099*	76,223 $\pm$ 4,112	53,966 $\pm$ 1,865
Кровь+СК (100%)	0,795 $\pm$ 0,014*	925,364 $\pm$ 12,517*	55,631 $\pm$ 4,227*	83,634 $\pm$ 1,201*	62,837 $\pm$ 0,512*
Кровь+0,0033 мл ДНКЖ	0,734 $\pm$ 0,033	819,756 $\pm$ 10,374	40,012 $\pm$ 1,118	75,786 $\pm$ 2,649	54,187 $\pm$ 3,020
Кровь+0,05 мл ДНКЖ	0,750 $\pm$ 0,018	912,638 $\pm$ 21,064*	45,276 $\pm$ 1,303*	76,023 $\pm$ 3,012	55,011 $\pm$ 3,347
Кровь+0,1мл ДНКЖ	0,954 $\pm$ 0,041*	917,450 $\pm$ 20,103*	47,382 $\pm$ 2,056*	89,379 $\pm$ 4,214*	62,353 $\pm$ 0,498*
Кровь+0,2мл ДНКЖ	0,621 $\pm$ 0,019*	734,826 $\pm$ 14,020*	24,367 $\pm$ 1,151*	62,125 $\pm$ 2,038*	46,218 $\pm$ 2,035*
Кровь+1 мл ДНКЖ	0,609 $\pm$ 0,035*	665,838 $\pm$ 9,064*	22,138 $\pm$ 0,946*	59,648 $\pm$ 3,422*	43,297 $\pm$ 2,185*

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с контролем ( $p<0,05$ ).

Таким образом, обработка консервированной крови холодной плазмой, содержащей 800 ppm NO, вызвала лактатацидоз и гипергликемию и может привести к развитию КС и ОС.

### 3.2.1.2. Влияние газообразного NO на активность оксидоредуктаз

Ингаляции имеют ряд преимуществ: 1) лекарственное средство поступает и концентрируется в слизистых оболочках дыхательных путей и альвеолах, всасывание препарата через которые происходит быстрее, чем через желудочно-кишечный тракт; 2) отсутствует снижение активности препаратов в печени, что повышает их эффективность; 3) оказывается как местное, так и общее действие, легко всасываясь и попадая в кровоток, воздействуя на весь организм. Кровь при ингаляциях является важным посредником между мишенями организма и всосавшимися веществами, поэтому исследование ее показателей может выявить механизмы действия и эффективности ингалируемых фармакологических препаратов при

альтерации функций организма [376]. Вышеизложенное открывает перспективу успешного применения ингаляционных препаратов АФК в терапии разных видов патологии, в том числе КТТ. Однако для физиологического обоснования этого применения необходимо изучить механизмы действия, как NO, так и СК, а так же препаратов на их основе.

Под влиянием 20ppm иNO уровень лактата был ниже показателя интактной крови в плазме и эритроцитах на 19,55% ( $p=0,031$ ), 18,94% ( $p=0,037$ ). При применении 50ppm иNO содержание лактата возросло в плазме на 17,43% ( $p=0,029$ ) по сравнению с контролем. 100ppm NO вызвали в плазме и эритроцитах лактатацидоз и гипергликемию (табл. 54).

По сравнению с контролем активность ЛДГпр, ЛДГобр увеличилась при 20ppm и 50ppm NO, но уменьшилась при 100ppm NO (табл. 55). КБЭР повысился после воздействия 20ppm NO на 24,51% ( $p=0,029$ ), уменьшился при 50ppm NO и 100ppm NO на 9,4% ( $p=0,033$ ), 25,61% ( $p=0,027$ ) соответственно по сравнению с контролем, что привело к снижению уровня лактата при 20ppm NO в крови, но росту при 100ppm NO.

Показатель S был понижен в плазме и эритроцитах при применении 20 ppm иNO на 14,33% ( $p=0,026$ ) и 11,40% ( $p=0,039$ ) на фоне роста ОАА на 15,63% ( $p=0,018$ ) по сравнению с контролем. Под воздействием 20 ppm NO возросла активность СОД на 7,5% ( $p=0,034$ ), каталазы – на 18,52% ( $p=0,036$ ), ГР – на 7,44% ( $p=0,038$ ), Гл-6-фДГ – на 11,23% ( $p=0,034$ ). По данным биохемилюминесценции интенсивность СРО повысилась при воздействии 50 ppm NO в плазме на 8,27% ( $p=0,029$ ), в эритроцитах – на 4,71% ( $p=0,038$ ), под влиянием 100 ppm NO в плазме и эритроцитах – на 15,93% ( $p=0,030$ ) и 6,65% ( $p=0,035$ ). Отмечено снижение ОАА крови по сравнению с контролем после применения высоких концентраций NO: при 50 ppm NO – на 5,26% ( $p=0,073$ ), при 100 ppm NO – на 9,84% ( $p=0,036$ ). Но при 50 ppm NO активность СОД, каталазы, ГР и Гл-6-фДГ возросла. Применение 100 ppm NO вызвало уменьшение активности СОД на 9,64% ( $p=0,035$ ), каталазы – на 19,51%

( $p=0,026$ ), ГР – на 18,16% ( $p=0,027$ ), Гл-6-фДГ – на 24,08% ( $p=0,019$ ) (табл. 57).

Под влиянием 20 ppm NO активность АлДГ возросла на 49,92% ( $p=0,016$ ) по сравнению с контролем, что привело к снижению концентрации МДА в плазме (на 34,75% ( $p=0,022$ )) и эритроцитах (на 3,99% ( $p=0,036$ )). При применении 50 ppm и 100 ppm NO активность АлДГ уменьшилась на 23,56% ( $p=0,024$ ) и 46,24% ( $p=0,001$ ), вызвав повышение концентрации МДА в плазме и эритроцитах (табл. 56). Газообразный NO в высоких концентрациях ингибирует активность АлДГ путем связывания продукта окисления NO ( $N_2O_3$ ) с цистеином в активном центре фермента. При этом нарушается: 1) связывание с кофактором АлДГ (НАД+ и НАДФ+); 2) альдегидный субстрат блокирует NO-ингибирование; 3) ингибирование NO происходит за счет взаимодействия со свободными SH-группами АлДГ [537].

Таким образом, высокие концентрации NO (50 ppm и 100 ppm) вызвали лактатацидоз, снижение детоксикационной функции крови, повышение интенсивности СРО. 100 ppm NO привели к гипергликемии и ингибированию ферментов АОС. Низкие концентрации NO (20 ppm) обладали антигипоксическим, гипогликемическим, детоксикационным и антиоксидантным действием.

### **3.2.1.3. Влияние динитрозильных комплексов железа на активность оксидоредуктаз**

Добавление к консервированной крови 0,0033 мл ДНКЖ не вызвало статистически значимых изменений концентрации лактата и глюкозы. При добавлении к крови 0,05 мл и 0,1 мл ДНКЖ отмечено снижение лактата и глюкозы. Под влиянием 0,05 мл ДНКЖ в плазме и эритроцитах крови по сравнению с показателями интактной крови концентрация лактата уменьшилась на 5,84% ( $p=0,039$ ), 6,56% ( $p=0,037$ ), глюкозы – на 17,26% ( $p=0,034$ ), 41,6% ( $p=0,012$ ). При добавлении 0,1 мл ДНКЖ в плазме крови концентрации лактата и глюкозы уменьшились на 20,06% ( $p=0,026$ ) и 16,87% ( $p=0,034$ ), в эритроцитах – на 21,37% ( $p=0,028$ ) и 43,24% ( $p=0,011$ ) по

сравнению с контролем. При использовании 0,2 мл ДНКЖ концентрация лактата увеличилась в плазме и эритроцитах на 5,78% ( $p=0,036$ ) и 13,03% ( $p=0,038$ ) соответственно, уровень глюкозы в плазме возрос на 15,61% ( $p=0,035$ ). Под влиянием 1 мл ДНКЖ уровень лактата возрос в плазме и эритроцитах на 10,99% ( $p=0,037$ ), 29,31% ( $p=0,024$ ), концентрация глюкозы в плазме повысилась на 18,74% ( $p=0,033$ ) по сравнению с контролем (табл. 54).

Добавление к консервированной крови 0,0033 мл и 0,05 мл ДНКЖ не вызвало статистически значимых изменений активности ЛДГ и КБЭР. При добавлении к крови 0,1 мл ДНКЖ отмечено повышение ЛДГпр на 31,80% ( $p=0,025$ ), ЛДГобр – на 12,16% ( $p=0,038$ ), КБЭР – на 38,35% ( $p=0,017$ ) по сравнению с контролем. При применении 0,2 мл и 1 мл ДНКЖ возросла активность ЛДГпр, ЛДГобр, однако КБЭР уменьшился, что привело к повышению концентрации молочной кислоты в крови (табл. 55).

Активность АлДГ повысилась при добавлении к крови 0,05 мл и 0,1 мл ДНКЖ на 30,12% ( $p=0,026$ ) и 83,52% ( $p=0,010$ ) соответственно и снизилась при использовании 1 мл ДНКЖ на 20,9% ( $p=0,018$ ) по сравнению с контролем. Активность АлДГ была в пределах нормы при использовании 0,0033 мл и 0,2 мл ДНКЖ (табл. 55). Концентрация МДА в плазме и эритроцитах снизилась на 23,03% ( $p=0,025$ ) и 23,12% ( $p=0,027$ ) только при добавлении к крови 0,1 мл ДНКЖ. При использовании 0,2 мл и 1 мл ДНКЖ содержание МДА возросло в плазме (на 15,96% ( $p=0,037$ ), 57,23% ( $p=0,019$ )) и эритроцитах (на 35,02% ( $p=0,016$ ), 65,48% ( $p=0,013$ )) по сравнению с показателями интактной крови. Под влиянием 0,0033 мл, 0,05 мл ДНКЖ уровень МДА в плазме и эритроцитах был в пределах нормы (табл. 56).

Показатель S в плазме и эритроцитах был в пределах нормы при добавлении к крови 0,0033 мл и 0,1 мл ДНКЖ. По данным биохемилюминесценции отмечен рост интенсивности СРО в крови при добавлении ДНКЖ в количестве 0,05 мл, 0,2 мл и 1 мл. При применении 0,05 мл ДНКЖ показатель S увеличился в плазме на 13,78% ( $p=0,029$ ), эритроцитах – на 3,92% ( $p=0,038$ ), под воздействием 0,2 мл ДНКЖ в плазме –

на 17,04% ( $p=0,033$ ), эритроцитах – на 14,06% ( $p=0,036$ ), при использовании 1 мл ДНКЖ в плазме – на 27,99% ( $p=0,024$ ), эритроцитах – на 18,20% ( $p=0,029$ ) соответственно по сравнению с контролем.

При добавлении к крови 0,0033 мл ДНКЖ ОАА и активность антиоксидантных ферментов были в пределах нормы. Под влиянием 0,05 мл ДНКЖ ОАА, активность ГР и Гл-6-фДГ были в пределах нормы, активность СОД и каталазы возросла по сравнению с контролем. При использовании 0,1 мл ДНКЖ возросли ОАА, активность СОД, каталазы, ГР и Гл-6-фДГ на 28,57% ( $p=0,024$ ), 11,39% ( $p=0,038$ ), 22,94% ( $p=0,033$ ), 17,63% ( $p=0,028$ ) и 14,91% ( $p=0,031$ ) (табл. 57). Добавление к крови ДНКЖ в количестве 0,2 мл и 1 мл оказало ингибирующее влияние на ОАА и ферменты АОС крови.

Таким образом, выявлен дозозависимый эффект действия ДНКЖ на окислительный и энергетический метаболизм консервированной крови. Добавление к крови 0,0033 мл ДНКЖ не оказало влияния на интенсивность СРО (по данным биохемилюминесценции и концентрации МДА), уровень лактата и глюкозы, ОАА, активность ЛДГ и антиоксидантных ферментов. Высокие концентрации ДНКЖ (0,6 мкмоль/л и 3 мкмоль/л) вызвали лактатацидоз, гипергликемию в плазме крови, снижение детоксикационной функции крови, повышение интенсивности СРО, ингибирование АОС. 0,3 мкмоль/л и 0,15 мкмоль/л ДНКЖ обладали антигипоксическим, гипогликемическим, детоксикационным и антиоксидантным действием.

#### **3.2.1.4. Влияние синглетного кислорода на активность и кинетические свойства окислительно-восстановительных ферментов крови**

Полученные результаты выявили гипогликемический эффект применения СК. По сравнению с показателями интактной крови после воздействия СК при мощности 50% концентрация глюкозы уменьшилась в плазме на 15,66% ( $p=0,034$ ), в эритроцитах – на 37,24% ( $p=0,026$ ), при мощности 100% содержание глюкозы снизилось в плазме и эритроцитах на 25,66% ( $p=0,030$ ) и 29,34% ( $p=0,033$ ). Отмечено снижение содержания

лактата в плазме крови под влиянием СК при мощности 50% и 100% на 6,45% ( $p=0,028$ ) и 8,15% ( $p=0,025$ ) соответственно по сравнению с показателями интактной крови. В эритроцитах концентрация лактата уменьшилась при использовании 100% СК на 12,92% ( $p=0,030$ ) и находилась в пределах значений контроля при использовании 50% СК (табл. 54). Это обусловлено повышением ЛДГпр, ЛДГобр и КБЭР после применения СК при 100% интенсивности по сравнению с контролем на 24,37% ( $p=0,036$ ), 14,46% ( $p=0,039$ ), 18,30% ( $p=0,037$ ). СК при 50% интенсивности не вызвал статистически значимых изменений активности ЛДГ и АлДГ (табл. 55), концентрации МДА и показателя светосуммы S (табл. 56).

При использовании СК при 100% интенсивности активность АлДГ возросла на 13,42% ( $p=0,026$ ) по сравнению с контролем, что привело к снижению концентрации МДА в плазме и эритроцитах на 32,07% ( $p=0,019$ ) и 21,56% ( $p=0,032$ ) соответственно. При воздействии 100% СК интенсивность СРО была в пределах нормы, возросли ОАА, активность СОД, каталазы, ГР и Гл-6-фДГ на 7,14% ( $p=0,038$ ), 12,35% ( $p=0,034$ ), 44,34% ( $p=0,015$ ), 10,07% ( $p=0,032$ ) и 15,81% ( $p=0,023$ ) (табл. 57). После воздействия СК интенсивностью 50% активность СОД и каталазы возросла, ОАА и активность ГР, Гл-6-фДГ были в пределах нормы. Таким образом, выявлен дозозависимый положительный эффект действия СК на биохимические показатели консервированной крови. Применение СК при всех мощностях генератора (50% и 100%) оказало гипогликемический, антигипоксический эффект. СК 100% интенсивности повысил активность ЛДГ, КБЭР, детоксикационную функцию крови, активировал АОС. При низкой интенсивности (50%) СК отмечен рост активности СОД и каталазы на фоне отсутствия статистически значимых изменений активности ЛДГ, АлДГ, ГР, Гл-6-фДГ, концентрации МДА, показателя светосуммы S, ОАА.

Удельная активность ЛДГпр и ЛДГобр в консервированной крови уменьшилась под влиянием иNO, генерируемого аппаратом «Плазон» при NOmin, NOmax и экспериментальным генератором NO в концентрации 100

ppm по типу конкурентного ингибирования, при этом  $V_{max}/K_t$  уменьшилась. Активация ЛДГпр и ЛДГобр в эритроцитах крови под влиянием 20ppm и 50ppm и NO, СК интенсивностью 100%, при добавлении к крови 0,1 мл ДНКЖ, 0,2мл ДНКЖ и 1мл ДНКЖ обусловлена повышением каталитической эффективности ЛДГ и снижением  $K_t$  и  $V_{max}$  для ЛДГ (табл. 58).

Ингибирование удельной активности АлДГ в консервированной крови под влиянием газообразного NO, генерируемого аппаратом «Плазон» при  $NO_{min}$  и  $NO_{max}$  и образованного экспериментальным генератором NO в концентрации 50 ppm и 100 ppm, а также под воздействием 3 мкмоль/л ДНКЖ происходило по типу конкурентного ингибирования, проявляющегося в повышении  $K_t$  и отсутствии статистически значимых изменений  $V_{max}$ , а  $V_{max}/K_t$  уменьшилась (табл. 59). Повышение удельной активности АлДГ эритроцитов крови под влиянием 20ppm и NO, СК интенсивностью 100%, 0,3 мкмоль/л и 0,15мкмоль/л ДНКЖ обусловлено повышением сродства АлДГ к субстрату реакции и каталитической эффективности АлДГ.

Таблица 58

Кинетические показатели лактатдегидрогеназы в консервированной крови под влиянием активных форм кислорода и азота

Условия эксперимента	ЛДГпр			ЛДГобр		
	$K_t$ , мин	$V_{max}$ , мкмоль/мин	$V_{max}/K_t$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	$K_t$ , мин	$V_{max}$ , мкмоль/мин	$V_{max}/K_t$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>
Интактная кровь – контроль	2,01±0,06	10,95±0,10	5,45±0,12	2,79±0,08	10,03±0,53	3,59±0,09
Кровь + физ. р-р	1,99±0,13	11,04±0,05	5,55±0,08	2,84±0,07	10,11±0,20	3,56±0,04
Кровь + NO (20 ppm)	1,24±0,07*	9,75±0,23*	7,86±0,15*	1,65±0,22*	8,73±0,12*	5,29±0,11*
Кровь + NO (50 ppm)	0,96±0,05*	10,16±0,10*	10,58±0,40*	1,43±0,16*	7,99±0,33*	5,59±0,19*
Кровь + NO(100 ppm)	3,55±0,32*	10,94±0,26	3,08±0,13*	4,63±0,25*	10,08±0,29*	2,18±0,07*
Кровь + $NO_{min}$	2,97±0,16*	11,03±0,15	3,71±0,16*	3,97±0,11*	10,12±0,40*	2,55±0,10*
Кровь + $NO_{max}$	3,84±0,19*	11,00±0,34	2,86±0,07*	5,24±0,21*	10,02±0,33*	1,91±0,05*
Кровь + СК (50%)	2,05±0,10	11,09±0,13	5,41±0,18	2,80±0,15	10,05±0,18	3,59±0,30
Кровь + СК (100%)	1,02±0,08*	10,25±0,10*	10,05±0,33*	1,57±0,30*	8,65±0,37*	5,51±0,17*
Кровь+0,0033мл ДНКЖ	1,97±0,13	10,99±0,34	5,58±0,20	2,82±0,16	9,97±0,24	3,54±0,15
Кровь+0,05мл ДНКЖ	2,00±0,25	10,97±0,22	5,49±0,17	2,77±0,30	10,07±0,26	3,64±0,21
Кровь +0,1 мл ДНКЖ	1,16±0,06*	9,32±0,24*	8,03±0,19*	1,45±0,14*	8,28±0,18*	5,71±0,32*
Кровь +0,2 мл ДНКЖ	1,20±0,08*	9,56±0,13*	7,97±0,25*	1,74±0,23*	9,04±0,15*	5,20±0,14*
Кровь + 1 мл ДНКЖ	0,98±0,05*	9,47±0,30*	9,66±0,32*	1,52±0,09*	8,36±0,27*	5,50±0,28*

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ).

Таблица 59

Кинетические показатели альдегиддегидрогеназы в консервированной крови под влиянием активных форм кислорода и азота

Условия эксперимента	$K_t$ , мин	$V_{max}$ , мкмоль/мин	$V_{max}/K_t$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>
Интактная кровь – контроль	1,29±0,07	5,99±0,13	4,64±0,15

Кровь + физ. р-р	1,33±0,12	6,03±0,06	4,53±0,09
Кровь + NO (20 ppm)	0,75±0,04*	5,53±0,09*	7,37±0,22*
Кровь + NO (50 ppm)	1,86±0,11*	5,93±0,14	3,18±0,07*
Кровь + NO (100 ppm)	1,94±0,09*	6,00±0,10	3,09±0,05*
Кровь + NO <sub>min</sub>	2,18±0,10*	5,96±0,20	2,73±0,09*
Кровь + NO <sub>max</sub>	3,12±0,16*	5,99±0,18	1,92±0,03*
Кровь + СК (50%)	1,31±0,08	6,02±0,13	4,60±0,17
Кровь + СК (100%)	0,64±0,05*	5,49±0,12*	8,58±0,19*
Кровь + 0,0033 мл ДНКЖ	1,30±0,14	5,95±0,11	4,58±0,012
Кровь + 0,05 мл ДНКЖ	0,80±0,07*	5,71±0,06*	7,14±0,21*
Кровь + 0,1 мл ДНКЖ	0,69±0,04*	5,60±0,10*	8,12±0,17*
Кровь + 0,2 мл ДНКЖ	1,39±0,05	6,51±0,016*	4,68±0,08
Кровь + 1 мл ДНКЖ	2,08±0,10*	5,97±0,20	2,87±0,06*

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ).

Отмечено ингибирование удельной активности СОД, каталазы в консервированной крови под влиянием иNO от аппарата «Плазон» при NO<sub>min</sub> и NO<sub>max</sub> и образованного экспериментальным генератором NO в концентрации 100 ppm, а также при добавлении к крови 0,2 мл и 1 мл ДНКЖ по типу смешанного ингибирования (Kt увеличилось, V<sub>max</sub> уменьшилась), что привело к уменьшению V<sub>max</sub>/Kt ферментов. Активация СОД и каталазы эритроцитов крови под влиянием 20ppm и 50ppm иNO, СК интенсивностью 50% и 100% и при воздействии 0,3 мкмоль/л и 0,15 мкмоль/л ДНКЖ обусловлена снижением Kt и V<sub>max</sub> и увеличением V<sub>max</sub>/Kt ферментов (табл. 60, 61).

Таблица 60

Кинетические показатели супероксиддисмутазы в консервированной крови под влиянием активных форм кислорода и азота

Условия эксперимента	Kt, мин	V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	V <sub>max</sub> /Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>
Интактная кровь – контроль	2,30±0,07	8,03±0,12	3,49±0,05
Кровь + физ. р-р	2,34±0,10	8,14±0,06	3,48±0,08
Кровь + NO (20 ppm)	1,46±0,12*	6,57±0,25*	4,50±0,27*
Кровь + NO (50 ppm)	1,23±0,08*	6,69±0,30*	5,44±0,31*
Кровь + NO (100 ppm)	3,89±0,16*	6,59±0,26*	1,69±0,14*
Кровь + NO <sub>min</sub>	4,25±0,23*	7,22±0,11*	1,70±0,12*
Кровь + NO <sub>max</sub>	4,47±0,30*	6,84±0,15*	1,53±0,08*
Кровь + СК (50%)	1,38±0,07*	7,13±0,24*	5,17±0,13*
Кровь + СК (100%)	1,21±0,05*	6,85±0,19*	5,66±0,23*
Кровь + 0,0033 мл ДНКЖ	2,28±0,15	7,98±0,25	3,50±0,16
Кровь + 0,05 мл ДНКЖ	1,57±0,10*	6,73±0,21*	4,29±0,20*
Кровь + 0,1 мл ДНКЖ	1,49±0,06*	7,10±0,16*	4,77±0,15*
Кровь + 0,2 мл ДНКЖ	4,53±0,44*	6,97±0,08*	1,54±0,10*
Кровь + 1 мл ДНКЖ	4,28±0,13*	7,31±0,10*	1,71±0,25*

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ).

Таблица 61

Кинетические показатели каталазы в консервированной крови под влиянием активных форм кислорода и азота

Условия эксперимента	Kt, мин	V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	V <sub>max</sub> /Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>
----------------------	---------	-------------------------------	---

Интактная кровь – контроль	1,10±0,05	8,09±0,12	7,35±0,23
Кровь + физ. р-р	1,15±0,07	8,11±0,05	7,05±0,16
Кровь + NO (20 ppm)	0,59±0,04*	7,43±0,15*	12,59±2,04*
Кровь + NO (50 ppm)	0,68±0,07*	7,29±0,13*	10,72±0,85*
Кровь + NO (100 ppm)	1,97±0,11*	6,87±0,10*	3,35±0,14*
Кровь + NO <sub>min</sub>	2,03±0,16*	7,11±0,13*	3,50±0,23*
Кровь + NO <sub>max</sub>	2,24±0,21*	7,03±0,08*	3,14±0,06*
Кровь + СК (50%)	0,71±0,04*	6,98±0,17*	9,83±0,76*
Кровь + СК (100%)	0,65±0,06*	7,04±0,21*	10,83±1,37*
Кровь + 0,0033 мл ДНКЖ	1,08±0,14	8,13±0,10	7,53±0,32
Кровь + 0,05 мл ДНКЖ	0,63±0,07*	6,75±0,16*	10,71±1,04*
Кровь + 0,1 мл ДНКЖ	0,56±0,05*	6,88±0,13*	12,29±1,25*
Кровь + 0,2 мл ДНКЖ	1,86±0,13*	7,07±0,12*	3,80±0,13*
Кровь + 1 мл ДНКЖ	2,13±0,09*	6,95±0,24*	3,26±0,20*

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ).

Выявлено ингибирование удельной активности ГР и Гл-6-фДГ в консервированной крови под влиянием газообразного NO от аппарата «Плазон» при NO<sub>min</sub> и NO<sub>max</sub>, образованного экспериментальным генератором NO в концентрации 100 ppm, и при добавлении к крови 0,2 мл и 1 мл ДНКЖ по типу неконкурентного ингибирования, что привело к снижению V<sub>max</sub>/K<sub>t</sub> ферментов (табл. 62, 63). Удельная активность ГР эритроцитов крови возросла под влиянием 20ppm и 50ppm газообразного NO, СК интенсивностью 100% и при применении 0,3 мкмоль/л ДНКЖ в результате повышения V<sub>max</sub>/K<sub>t</sub>, снижения K<sub>t</sub> и V<sub>max</sub> для ГР (табл. 62).

Таблица 62

Кинетические показатели глутатионредуктазы в консервированной крови под влиянием активных форм кислорода и азота

Условия эксперимента	K <sub>t</sub> , мин	V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	V <sub>max</sub> /K <sub>t</sub> , мкмоль/мин <sup>2</sup>
Интактная кровь – контроль	0,94±0,03	8,31±0,12	8,84±0,18
Кровь + физ. р-р	0,97±0,08	8,41±0,08	8,67±0,20
Кровь + NO (20 ppm)	0,51±0,03*	7,86±0,14*	15,41±1,06*
Кровь + NO (50 ppm)	0,49±0,04*	7,94±0,15*	16,20±1,13*
Кровь + NO (100 ppm)	0,96±0,12	6,38±0,21*	6,65±0,29*
Кровь + NO <sub>min</sub>	0,92±0,10	6,44±0,18*	7,00±0,32*
Кровь + NO <sub>max</sub>	0,99±0,09	6,52±0,30*	6,59±0,17*
Кровь + СК (50%)	0,95±0,14	8,27±0,22	8,71±0,30
Кровь + СК (100%)	0,63±0,05*	8,04±0,20	12,76±1,12*
Кровь + 0,0033 мл ДНКЖ	0,94±0,07	8,29±0,17	8,82±0,23
Кровь + 0,05 мл ДНКЖ	0,93±0,08	8,40±0,19	9,03±0,25
Кровь + 0,1 мл ДНКЖ	0,67±0,06*	7,96±0,12*	11,88±0,79*
Кровь + 0,2 мл ДНКЖ	0,94±0,05	5,96±0,25*	6,34±0,15*
Кровь + 1 мл ДНКЖ	0,91±0,06	6,40±0,16*	7,03±0,31*

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ).

Повышение удельной активности Гл-6-фДГ эритроцитов крови под влиянием 20ppm и 50 ppm газообразного NO, СК интенсивностью 100% и

при воздействии 0,3 мкмоль/л ДНКЖ обусловлено повышением сродства Гл-6-фДГ к субстрату реакции и  $V_{\max}/K_t$  Гл-6-фДГ (табл. 63).

Таблица 63

Кинетические показатели глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в консервированной крови под влиянием активных форм кислорода и азота

Условия эксперимента	$K_t$ , мин	$V_{\max}$ , мкмоль/мин	$V_{\max}/K_t$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>
Интактная кровь – контроль	0,69±0,06	6,80±0,20	9,86±0,16
Кровь + физ. р-р	0,70±0,05	6,75±0,11	9,64±0,22
Кровь + NO (20 ppm)	0,53±0,04*	6,55±0,13	12,36±0,33*
Кровь + NO (50 ppm)	0,42±0,03*	6,47±0,08*	15,41±0,39*
Кровь + NO (100 ppm)	0,72±0,15	5,24±0,22*	7,28±0,15*
Кровь + NO <sub>min</sub>	0,70±0,09	4,99±0,34*	7,13±0,24*
Кровь + NO <sub>max</sub>	0,68±0,12	5,47±0,17*	8,04±0,33*
Кровь + СК (50%)	0,67±0,07	6,79±0,26	10,13±0,26
Кровь + СК (100%)	0,50±0,06*	6,49±0,11	12,98±0,41*
Кровь + 0,0033 мл ДНКЖ	0,71±0,08	6,81±0,19	9,59±0,24
Кровь + 0,05 мл ДНКЖ	0,70±0,05	6,86±0,17	9,80±0,15
Кровь + 0,1 мл ДНКЖ	0,45±0,03*	6,37±0,12	14,16±0,57*
Кровь + 0,2 мл ДНКЖ	0,71±0,10	5,75±0,10*	8,10±0,28*
Кровь + 1 мл ДНКЖ	0,66±0,09	5,81±0,15*	8,80±0,12*

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, полученные результаты подтвердили данные литературы о дозозависимых свойствах NO [386]. NO проявляет регуляторные функции при неизменной концентрации в тканях порядка нескольких микромолей на 1 кг массы ткани (стационарная концентрация – до 100 мкмоль/кг). В более высоких концентрациях NO, синтезируемый iNOS, обнаруживает цитотоксическую и цитостатическую активность [61; 856]. В результате проведенного эксперимента в отношении окислительного и энергетического метаболизма консервированной крови впервые выявлен дозозависимый эффект действия iNO и депонированной формы NO (ДНКЖ).

Выявленные в отношении АлДГ эритроцитов крови дозозависимые свойства NO обусловлены источником NO. Введение в образцы крови свободного газообразного NO от аппарата «Плазон», создающего высокие концентрации NO в сочетании с АФК, привело к ингибированию удельной активности АлДГ, наиболее выраженному при использовании NO<sub>max</sub>. При применении экспериментального генератора, образующего NO-содержащий воздушный поток без примесей с более низкими (на 1-2 порядка) [238] концентрациями NO, удельная активность АлДГ возросла при 20ppm NO, но снизилась при 50ppm NO с максимальным ингибированием при 100ppm NO.

При добавлении к консервированной крови ДНКЖ также выявлена зависимость активности АлДГ от дозы. Активность АлДГ повысилась при добавлении к крови 0,05 мл и 0,1 мл ДНКЖ и снизилась при использовании 1 мл ДНКЖ. Активность АлДГ была в пределах нормы при использовании 0,0033 мл и 0,2 мл ДНКЖ. Данная динамика изменения активности АлДГ указывает на предпочтительность более низких доз ДНКЖ для биологической системы. Активации АлДГ под влиянием ДНКЖ, вероятно, способствует потенциальное сходство органических нитратов и экзогенных ДНКЖ, которые выступают субстратами фермента [515].

Мартусевичем А.К. с соавт. [237; 238] предположены потенциальные механизмы действия NO на активность АлДГ в биологической системе, согласно которым высокие действующие концентрации NO могут в присутствии O<sub>2</sub> и АФК образовывать пероксинитрит, приводя к окисдации и/или нитроксилированию SH-группы цистеина активного центра АлДГ (рис. 51). Также возможно ингибирование активности АлДГ продуктом ее реакции – молекулой NO. Небольшие концентрации иNO (20 ppm), проявляя антиоксидантное действие и способствуя стимуляции энергетического обмена, утилизируются тиоредоксиновой системой, каталазой, дезоксигемоглобином, цитохромом *c* и другими молекулами [576].

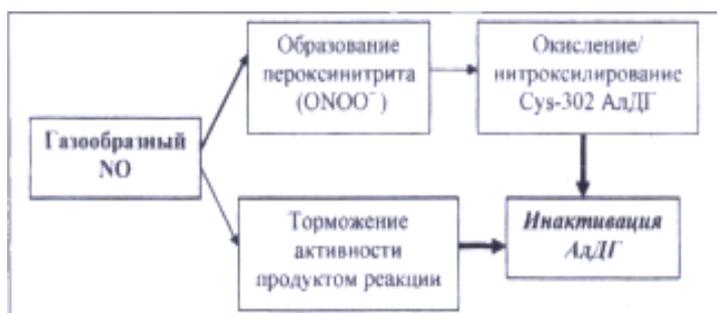


Рис. 51. Схема потенциального механизма действия газообразного оксида азота на активность альдегиддегидрогеназы [231].

Для ДНКЖ предполагается иной механизм действия [237]: небольшое количество ДНКЖ, частично разрушающееся в биосреде, переносит лиганд с глутатиона на белковые макромолекулы, включающие аминокислоты с SH-группами, увеличивая пул плазменных S-нитрозиотиолов, высвобождающихся при деградации исходных ДНКЖ (рис. 52, а); значительный уровень ДНКЖ

способствует поддержанию восстановленного состояния цистеина активного центра АлДГ, обеспечивая ее активацию и модификацию кинетических свойств [238].

При большой концентрации ДНКЖ вероятны 2 противоположных процесса (рис. 52, б). Избыток ДНКЖ, не успевая вступить во взаимодействие с белками плазмы (альбумином), деградирует до свободного NO, мгновенно образующего пероксинитрит в кислородсодержащей среде с последующей инактивацией активного центра АлДГ. При этом также протекает описанный выше процесс высвобождения S-нитрозиотиолов, препятствуя окислительной модификации цистеина [238]. В результате происходило ингибирование АлДГ при введении 3 мкмоль/л ДНКЖ по сравнению с 0,3 мкмоль/л ДНКЖ. Следовательно, можно предположить, что 0,3 мкмоль/л ДНКЖ – предельно возможное количество, позволяющее реализовать его позитивное действие [238].

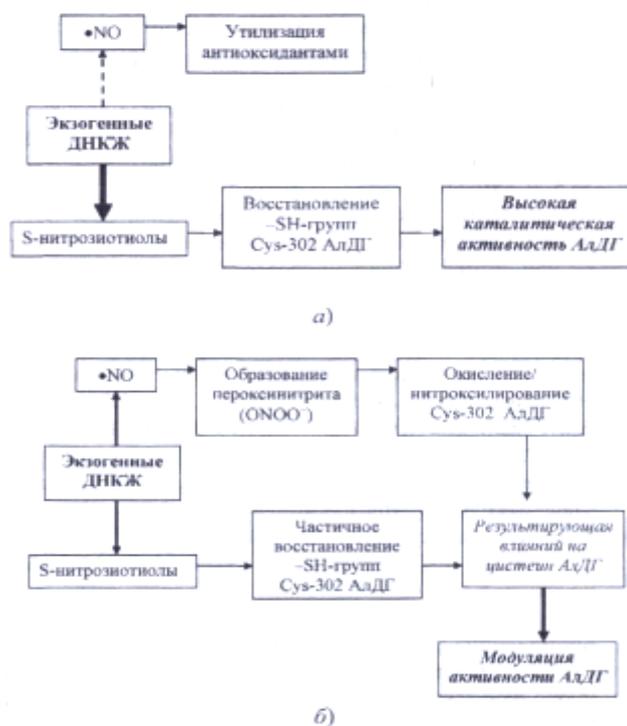


Рис. 52. Схема потенциальных механизмов действия экзогенных ДНКЖ на активность АлДГ: а – низких концентраций ДНКЖ; б – более высоких концентраций ДНКЖ [259].

Негативный эффект высоких концентраций ДНКЖ, с одной стороны, может быть обусловлен одномоментным высвобождением большого объема NO, что приводит к образованию пероксинитрита, стимулирующего ПОЛ. С

другой стороны, ингибирование АлДГ под влиянием 3 мкмоль/л ДНКЖ происходит, возможно, за счет быстрого накопления продукта реакции (NO), ингибирующего активность АлДГ по механизму обратной связи аналогично сдвигам, наблюдающимся при обработке образцов крови иNO [238].

Следовательно, проведенное исследование позволило получить интересные данные о том, что природа и молекулярные механизмы действия NO обуславливают метаболическую адаптацию организма к данному биорегулятору при альтерации функций организма.

### **3.2.2. Воздействие активных форм кислорода и азота на биохимические показатели крови и органов здоровых крыс**

#### **3.2.2.1. Влияние NO на каталитические свойства оксидоредуктаз крови и органов здоровых крыс**

В плазме и эритроцитах крови крыс под влиянием NO в концентрации 20ppm уровень лактата был ниже показателей крови крыс без воздействий на 35,03% ( $p=0,017$ ) и 42,90% ( $p=0,010$ ). При применении 50ppm NO содержание лактата уменьшилось в плазме на 27,03% ( $p=0,029$ ), в эритроцитах – на 23,90% ( $p=0,036$ ). Ингаляции NO в концентрации 100ppm вызвали лактатацидоз, концентрация лактата увеличилась в плазме и эритроцитах на 31,16% ( $p=0,032$ ) и 70,46% ( $p=0,023$ ) соответственно. Показано, что концентрация глюкозы возросла в плазме и эритроцитах при использовании 100ppm NO на 13,68% ( $p=0,037$ ), в 2,1 раза ( $p<0,001$ ), уровень глюкозы уменьшился в плазме на 16,05% ( $p=0,034$ ) при использовании 50ppm NO и оказался ниже показателей крови интактных крыс при применении 20ppm NO в плазме на 24,93% ( $p=0,028$ ) и в эритроцитах на 33,50% ( $p=0,020$ ) соответственно (табл. 64).

Таблица 64

#### **Концентрация лактата и глюкозы в крови здоровых крыс под влиянием АФК**

Условия эксперимента	Лактат, ммоль/л		Глюкоза, ммоль/л	
	плазма	эритроциты	Плазма	эритроциты
Здоровые крысы	2,786±0,035	0,958±0,007	8,715±0,027	0,982±0,012
здоровые крысы + физ. р-р	2,793±0,015	0,960±0,010	8,713±0,018	0,979±0,016
здоровые крысы + NO (20 ppm)	1,810±0,009*	0,547±0,023*	6,542±0,130*	0,653±0,021*
здоровые крысы + NO (50 ppm)	2,033±0,021*	0,729±0,017*	7,316±0,215*	0,975±0,016
здоровые крысы + NO (100 ppm)	3,654±0,017*	1,633±0,019*	9,907±0,324*	2,072±0,105*

здоровые крысы + СК 100%	1,713±0,011*	0,482±0,031*	6,107±0,054*	0,589±0,047*
здоровые крысы + ДНКЖ	1,599±0,024*	0,607±0,016*	5,984±0,063*	0,601±0,030*

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ).

Активность ЛДГпр, ЛДГобр, КБЭР возросли в крови после ингаляций 20ppm и 50ppm NO по сравнению с показателями крыс без воздействий. После ингаляций 100 ppm NO активность ЛДГпр уменьшилась на 21,22% ( $p = 0,027$ ), КБЭР – на 25,72% ( $p = 0,026$ ) (табл. 65), что привело к снижению уровня лактата под влиянием 20ppm и 50ppm NO и повышению концентрации молочной кислоты в крови после применения 100ppm NO.

Таблица 65

Удельная активность лактатдегидрогеназы (нмоль НАДН/мин× мг белка) и коэффициент баланса энергетических реакций в крови и гомогенате органов здоровых крыс под влиянием АФК и АФА

Объект исследования	Условия эксперимента	ЛДГпр	ЛДГобр	КБЭР
Кровь	здоровые крысы	42,772±1,265	174,179±4,368	6,041±0,247
	крысы + физ. р-р	43,081±2,136	174,488±3,369	6,099±0,153
	крысы + NO (20 ppm)	74,118±3,965*	220,095±16,731*	11,351±0,249*
	крысы + NO (50 ppm)	81,630±4,217*	215,470±13,218*	14,356±1,025*
	крысы + NO (100 ppm)	33,697±1,285*	159,220±10,107	4,487±0,143*
	крысы + СК	68,940±3,277*	199,347±7,026*	11,964±0,303*
	крысы + ДНКЖ	85,030±3,940*	231,160±15,429*	13,534±0,421*
Печень	здоровые крысы	245,098±7,854	310,731±2,538	62,224±1,108
	крысы + физ. р-р	244,601±4,638	310,229±4,654	62,145±2,006
	крысы + NO (20 ppm)	305,650±10,027*	375,210±12,324*	66,368±3,587
	крысы + NO (50 ppm)	349,180±16,133*	499,500±16,507*	48,847±0,952*
	крысы + NO (100 ppm)	187,620±9,241*	287,760±13,411*	42,503±1,413*
	крысы + СК	361,607±18,504*	419,336±17,024*	74,310±2,561*
	крысы + ДНКЖ	354,750±15,328*	434,260±15,281*	66,748±3,004
Почки	здоровые крысы	580,286±5,487	709,552±11,471	66,803±1,203
	крысы + физ. р-р	579,803±7,003	709,068±20,055	66,885±3,562
	крысы + NO (20 ppm)	703,658±21,025*	811,344±17,362*	75,195±8,138
	крысы + NO (50 ppm)	629,633±18,347*	841,950±15,419*	55,946±4,825*
	крысы + NO (100 ppm)	543,217±16,198*	752,330±20,176*	52,130±2,473*
	крысы + СК	728,701±22,134*	834,021±26,533*	76,332±4,904*
	крысы + ДНКЖ	703,190±19,503*	784,980±19,147*	80,287±6,623*
Сердце	здоровые крысы	326,559±7,214	410,955±12,872	63,196±2,031
	крысы + физ. р-р	326,960±9,003	411,357±7,634	63,196±3,007
	крысы + NO (20 ppm)	610,553±22,105*	716,835±15,928*	72,572±2,968*
	крысы + NO (50 ppm)	562,920±16,374*	737,840±20,031*	58,200±3,354
	крысы + NO (100 ppm)	497,490±13,635*	770,620±19,246*	41,704±1,260*
	крысы + СК	680,977±18,020*	661,538±17,305*	105,864±4,375*
	крысы + ДНКЖ	518,330±17,144*	617,690±21,126*	70,386±3,328
легкие	здоровые крысы	143,801±4,257	256,951±3,006	31,281±1,153
	крысы + физ. р-р	144,105±2,360	257,254±4,233	31,373±2,369
	крысы + NO (20 ppm)	296,132±10,425*	380,560±17,496*	60,545±6,147*
	крысы + NO (50 ppm)	184,890±9,381*	364,710±15,521*	25,696±1,030*
	крысы + NO (100 ppm)	142,130±11,005	299,890±13,967*	22,465±0,978*
	крысы + СК	339,753±20,117*	422,135±21,030*	64,763±3,596*
	крысы + ДНКЖ	251,170±14,352*	340,960±14,204*	54,271±2,831*

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ).

Удельная активность ЛДГ возросла в гомогенате печени, почек здоровых животных после ингаляций NO в концентрации 20ppm и 50ppm по сравнению с показателями крыс без воздействий. После ингаляций 20ppm NO в гомогенате легких здоровых животных по сравнению с показателями крыс без воздействий отмечено увеличение удельной активности ЛДГпр, ЛДГобр, КБЭР. При этом КБЭР после ингаляций 20ppm NO увеличился в гомогенате почек и сердца на 12,56% ( $p=0,067$ ) и 14,84% ( $p=0,037$ ), что свидетельствовало об уменьшении содержания лактата. Под влиянием 50ppm NO КБЭР оказался ниже показателя здоровых крыс без воздействий в гомогенате печени, почек, легких на 21,50% ( $p=0,024$ ), 16,25% ( $p=0,033$ ), 17,85% ( $p=0,033$ ). После ингаляций 100ppm NO КБЭР уменьшился в гомогенате печени, почек, сердца, легких. В гомогенате сердца удельная активность ЛДГ после ингаляций NO в концентрации 20ppm, 50ppm и 100ppm возросла по сравнению с показателями крыс без воздействий.

Ферменты дыхательной цепи митохондрий входят в спектр биомаркеров NO и его метаболитов [296; 445; 448; 479; 518; 583; 584; 748]. Ингаляции животных NO в концентрации 20ppm вызвали повышение в митохондриях печени, почек, сердца и легких удельной активности СДГ (на 17,33% ( $p=0,035$ ), 32,16% ( $p=0,024$ ), 32,20% ( $p=0,025$ ) и в 2,2 раза ( $p < 0,001$ ) соответственно) и цитохром *c* оксидазы (на 47,53% ( $p=0,020$ ), 78,96% ( $p=0,015$ ), 40,93% ( $p=0,026$ ), 49,81% ( $p=0,021$ )) по сравнению с показателями крыс без воздействий. После ингаляций 50ppm NO удельная активность СДГ возросла в митохондриях печени, почек и легких, активность цитохром *c* оксидазы – в митохондриях печени, почек, сердца, легких на 23,68% ( $p=0,035$ ), 98,62% ( $p=0,003$ ), 71,16% ( $p=0,014$ ), 18,22% ( $p=0,029$ ) по сравнению с показателями интактных животных. Ингаляции здоровых крыс NO в концентрации 100ppm привели к снижению удельной активности СДГ в митохондриях почек, сердца и легких на 27,35% ( $p=0,023$ ), 48,44% ( $p=0,008$ ), 15,05% ( $p=0,027$ ) соответственно. После ингаляций здоровых крыс 100ppm

NO удельная активность цитохром с оксидазы уменьшилась в митохондриях почек и легких на 37,12% ( $p=0,020$ ) и 26,03% ( $p=0,025$ ) по сравнению с показателями интактных крыс (табл. 66).

Таблица 66

Удельная активность сукцинатдегидрогеназы, цитохром с оксидазы в митохондриях органов здоровых крыс под влиянием АФК и АФА

Орган	Условия эксперимента	СДГ, мкмоль/л×мин×мг белка	Цитохром-с-оксидаза, ммоль/л×мин×мг белка
Печень	здоровые крысы	518,016±15,337	582,071±11,124
	здоровые крысы + физ. р-р	520,134±20,079	579,006±13,045
	здоровые крысы + NO (20 ppm)	607,770±9,344*	858,750±22,116*
	здоровые крысы + NO (50 ppm)	641,510±11,027*	719,890±17,584*
	здоровые крысы + NO (100 ppm)	642,800±8,359*	584,680±14,629
	здоровые крысы + СК	741,917±12,386*	747,820±18,035*
	здоровые крысы + ДНКЖ	638,590±10,171*	806,390±20,407*
Почки	здоровые крысы	187,898±10,275	197,647±8,522
	здоровые крысы + физ. р-р	188,563±8,974	195,884±6,734
	здоровые крысы + NO (20 ppm)	248,330±7,129*	353,710±7,581*
	здоровые крысы + NO (50 ppm)	227,540±7,281*	392,570±7,901*
	здоровые крысы + NO (100 ppm)	136,500±5,864*	124,280±5,136*
	здоровые крысы + СК	238,000±8,687*	471,880±11,074*
	здоровые крысы + ДНКЖ	410,270±15,103*	303,090±5,869*
Сердце	здоровые крысы	214,179±10,068	210,243±8,765
	здоровые крысы + физ. р-р	215,026±9,871	209,764±6,497
	здоровые крысы + NO (20 ppm)	283,140±7,336*	296,290±7,120*
	здоровые крысы + NO (50 ppm)	173,265±6,904*	359,860±12,304*
	здоровые крысы + NO (100 ppm)	110,420±8,112*	194,890±4,713
	здоровые крысы + СК	293,130±13,008*	662,460±18,005*
	здоровые крысы + ДНКЖ	472,630±11,582*	263,910±5,896*
Легкие	здоровые крысы	92,828±3,244	674,880±13,704
	здоровые крысы + физ. р-р	93,115±1,906	675,234±14,385
	здоровые крысы + NO (20 ppm)	204,000±8,905*	1011,060±23,062*
	здоровые крысы + NO (50 ppm)	118,325±6,873*	797,810±16,275*
	здоровые крысы + NO (100 ppm)	78,855±5,134*	499,200±11,068*
	здоровые крысы + СК	117,880±7,314*	831,460±18,332*
	здоровые крысы + ДНКЖ	155,880±6,002*	908,240±19,126*

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p<0,05$ ).

Исследование ферментов системы детоксикации показало увеличение удельной активности АДГпр, АДГобр в субклеточных фракциях печени, почек, сердца, легких здоровых животных после ингаляций NO в концентрации 20ppm, 100ppm по сравнению с показателями интактных крыс. Соотношение АДГпр/АДГобр после ингаляций 20ppm NO уменьшилось в гомогенате, цитозоле и митохондриях печени, почек, сердца, легких, способствуя увеличению содержания этанола и уменьшению концентрации ацетальдегида. Под влиянием 50ppm и NO удельная активность АДГпр и АДГобр увеличилась в гомогенате, цитозоле и митохондриях печени, почек,

сердца, легких, АДГпр/АДГобр возросло в цитозоле (31,78% (p=0,026)) и гомогенате (11,05% (p=0,037)) печени, гомогенате (28,84% (p=0,027)) и цитозоле (52,58% (p=0,019)) сердца, гомогенате (27,52% (p=0,030)), цитозоле (42,86% (p=0,025)) и митохондриях (62,16% (p=0,013)) легких (табл. 67).

Таблица 67

Удельная активность алкогольдегидрогеназы (нмоль НАДН/мин×  
мг белка) в органах здоровых крыс под влиянием АФК и АФА

Объект исследования		Условия эксперимента	АДГ пр	АДГ обр	АДГ пр/АДГ обр
Печень	гомогенат	здоровые крысы	119,224±4,113	306,444±5,213	0,389±0,004
		крысы + физ. р-р	118,975±2,567	306,197±4,125	0,389±0,006
		крысы + NO (20 ppm)	171,825±8,013*	499,705±12,385*	0,344±0,007*
		крысы + NO (50 ppm)	138,370±4,225*	320,444±6,417	0,432±0,010*
		крысы + NO (100 ppm)	164,490±3,974*	332,580±5,693*	0,495±0,012*
		крысы + СК	171,137±5,188*	481,301±10,027*	0,356±0,009*
		крысы + ДНКЖ	166,410±3,237*	503,150±13,129*	0,331±0,005*
	цитоплазматическая фракция	здоровые крысы	62,942±2,835	244,053±3,756	0,258±0,003
		крысы + физ. р-р	63,107±3,017	244,201±4,012	0,258±0,007
		крысы + NO (20 ppm)	103,075±4,892*	451,243±15,336*	0,228±0,005*
		крысы + NO (50 ppm)	101,000±3,615*	296,810±5,914*	0,340±0,011*
		крысы + NO (100 ppm)	115,160±5,004*	280,390±4,625*	0,411±0,006*
		крысы + СК	98,830±3,627*	405,528±9,538*	0,244±0,005
		крысы + ДНКЖ	94,840±2,981*	416,420±13,399*	0,228±0,008*
	митохондриальная фракция	здоровые крысы	59,391±2,160	133,014±2,318	0,447±0,011
		крысы + физ. р-р	58,997±3,024	132,617±3,256	0,445±0,013
		крысы + NO (20 ppm)	78,613±3,968*	207,253±7,548*	0,379±0,009*
		крысы + NO (50 ppm)	81,530±5,006*	195,840±5,399*	0,416±0,012*
		крысы + NO (100 ppm)	94,840±4,953*	185,970±5,821*	0,510±0,016*
		крысы + СК	87,795±6,012*	249,184±7,962*	0,352±0,007*
		крысы + ДНКЖ	75,840±4,717*	334,45±10,003*	0,227±0,005*
Почки	гомогенат	здоровые крысы	28,175±1,028	129,642±3,221	0,217±0,006
		крысы + физ. р-р	28,483±0,956	130,005±2,995	0,219±0,004
		крысы + NO (20 ppm)	39,316±2,017*	370,620±8,124*	0,106±0,003*
		крысы + NO (50 ppm)	38,910±3,005*	184,250±4,386*	0,211±0,005
		крысы + NO (100 ppm)	59,740±4,120*	242,040±5,302*	0,247±0,007*
		крысы + СК	38,440±2,203*	457,727±7,968*	0,084±0,002*
		крысы + ДНКЖ	44,190±1,154*	424,320±10,185*	0,104±0,004*
	цитоплазматическая фракция	здоровые крысы	59,671±2,594	286,729±4,312	0,208±0,005
		крысы + физ. р-р	60,024±3,066	287,081±3,025	0,209±0,008
		крысы + NO (20 ppm)	75,030±4,213*	401,564±12,154*	0,187±0,010*
		крысы + NO (50 ppm)	71,920±2,246*	333,920±9,835*	0,215±0,007
		крысы + NO (100 ppm)	87,900±3,505*	348,570±7,486*	0,252±0,011*
		крысы + СК	70,500±4,001*	390,996±11,017*	0,180±0,005*
		крысы + ДНКЖ	74,310±2,378*	419,290±15,235*	0,177±0,007*
	митохондриальная фракция	здоровые крысы	28,418±1,321	265,769±4,249	0,107±0,004
		крысы + физ. р-р	28,725±2,006	266,073±5,623	0,108±0,005
		крысы + NO (20 ppm)	47,182±4,135*	541,736±20,140*	0,087±0,003*
		крысы + NO (50 ppm)	49,950±5,227*	416,640±14,327*	0,120±0,006
		крысы + NO (100 ppm)	53,040±3,946*	382,810±11,865*	0,139±0,009*
		крысы + СК	39,217±2,013*	619,533±18,273*	0,063±0,002*
		крысы + ДНКЖ	41,190±3,335*	527,320±20,585*	0,078±0,004*
Сердце	гомогенат	здоровые крысы	44,710±2,566	167,371±2,044	0,267±0,004
		крысы + физ. р-р	45,123±1,387	167,790±3,112	0,269±0,010
		крысы + NO (20 ppm)	68,650±3,615*	278,045±14,240*	0,247±0,008*
		крысы + NO (50 ppm)	72,560±4,253*	211,090±10,634*	0,344±0,012*

		крысы + NO (100 ppm)	63,650±1,986*	209,530±9,577*	0,304±0,007*
		крысы + СК	69,274±2,577*	308,591±13,025*	0,225±0,005*
		крысы + ДНКЖ	59,970±3,017*	296,720±11,106*	0,202±0,004*
	цитоплазматическая фракция	здоровые крысы	18,756±0,964	193,773±2,569	0,097±0,003
		крысы + физ. р-р	18,454±0,243	193,469±3,548	0,095±0,005
		крысы + NO (20 ppm)	29,218±0,861*	375,603±12,763*	0,078±0,003*
		крысы + NO (50 ppm)	38,790±2,764*	262,370±10,180*	0,148±0,006*
		крысы + NO (100 ppm)	41,800±4,009*	300,970±8,756*	0,139±0,008*
		крысы + СК	34,860±1,528*	393,750±9,213*	0,089±0,004
	митохондриальная фракция	здоровые крысы	32,050±2,017*	415,070±14,183*	0,077±0,002*
		здоровые крысы	33,383±1,237	146,651±3,226	0,228±0,011
		крысы + физ. р-р	33,601±0,985	146,867±1,718	0,229±0,005
		крысы + NO (20 ppm)	57,880±3,124*	296,460±4,892*	0,195±0,007*
		крысы + NO (50 ppm)	49,610±1,677*	219,933±7,146*	0,226±0,012
		крысы + NO (100 ppm)	46,200±2,006*	170,205±6,997*	0,271±0,010*
Легкие	гомогенат	крысы + СК	63,395±3,012*	304,070±14,278*	0,209±0,009
		крысы + ДНКЖ	39,100±1,642*	238,675±11,065*	0,164±0,005*
		здоровые крысы	48,393±1,431	271,385±3,043	0,178±0,004
		крысы + физ. р-р	48,802±0,965	271,794±1,527	0,179±0,003
		крысы + NO (20 ppm)	64,597±3,122*	403,029±17,258*	0,160±0,006*
		крысы + NO (50 ppm)	77,720±3,864*	342,440±14,352*	0,227±0,012*
		крысы + NO (100 ppm)	61,440±2,966*	326,763±10,861*	0,188±0,007
	цитоплазматическая фракция	крысы + СК	59,760±2,728*	384,120±15,887*	0,156±0,005*
		крысы + ДНКЖ	71,200±4,005*	424,400±20,051*	0,168±0,008
		здоровые крысы	27,264±0,946	770,710±4,305	0,035±0,002
		крысы + физ. р-р	26,935±1,140	770,398±7,354	0,035±0,002
		крысы + NO (20 ppm)	37,809±2,131*	1513,968±31,468*	0,025±0,003*
		крысы + NO (50 ppm)	41,220±1,873*	825,240±24,109*	0,050±0,005*
		крысы + NO (100 ppm)	36,040±3,021*	796,034±18,545	0,045±0,002*
	митохондриальная фракция	крысы + СК	52,350±3,004*	1757,420±36,008*	0,030±0,004
крысы + ДНКЖ		43,490±1,659*	1827,670±25,146*	0,024±0,002*	
здоровые крысы		20,231±0,258	552,588±2,264	0,037±0,004	
крысы + физ. р-р		20,144±0,149	552,493±10,621	0,036±0,005	
крысы + NO (20 ppm)		31,373±2,052*	1241,783±35,015*	0,025±0,002*	
крысы + NO (50 ppm)		43,410±3,120*	719,290±14,763*	0,060±0,006*	
крысы + NO (100 ppm)		32,460±2,978*	625,820±20,008*	0,052±0,002*	
	крысы + СК	34,740±3,005*	1316,420±24,532*	0,026±0,002*	
	крысы + ДНКЖ	38,550±4,121*	1227,830±18,996*	0,031±0,004	

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ).

Соотношение АДГпр/АДГобр после ингаляций 100ppm NO здоровых крыс возросло в субклеточных фракциях печени, почек, сердца, цитозоле и митохондриях легких, способствуя увеличению высокотоксичного ацетальдегида. Следовательно, удельная активность АДГпр, АДГобр повысилась под влиянием ингаляций 20ppm, 50ppm и 100ppm NO в гомогенате, цитозоле и митохондриях легких и сердца, при этом в субклеточных фракциях легких и сердца АДГпр/АДГобр уменьшилось под влиянием 20ppm NO и увеличилось после воздействия 50ppm, 100ppm NO. Удельная активность АДГ здоровых животных после ингаляций 20ppm NO

по сравнению с показателем крыс без воздействий увеличилась в субклеточных фракциях печени, почек, сердца, легких (табл. 68).

Таблица 68

Удельная активность альдегиддегидрогеназы в крови и органах здоровых крыс под влиянием АФК и АФА

Объект исследования	Условия эксперимента	АлДГ, нмоль НАДН/мин×мг белка	
Кровь (эритроциты)	здоровые крысы	22,359±0,947	
	здоровые крысы + физ. р-р	22,374±0,231	
	здоровые крысы + NO (20 ppm)	99,981±1,086*	
	здоровые крысы + NO (50 ppm)	20,644±0,547	
	здоровые крысы + NO (100 ppm)	13,289±0,154*	
	здоровые крысы + СК	49,174±0,166*	
	здоровые крысы + ДНКЖ	35,181±0,099*	
Печень	гомогенат	здоровые крысы	73,129±2,535
		здоровые крысы + физ. р-р	72,875±1,014
		здоровые крысы + NO (20 ppm)	105,960±4,032*
		здоровые крысы + NO (50 ppm)	77,260±1,954
		здоровые крысы + NO (100 ppm)	65,878±0,992*
		здоровые крысы + СК	99,025±2,034*
		здоровые крысы + ДНКЖ	118,830±3,112*
	цитоплазматическая фракция	здоровые крысы	53,446±1,531
		здоровые крысы + физ. р-р	53,572±2,004
		здоровые крысы + NO (20 ppm)	62,333±1,015*
		здоровые крысы + NO (50 ppm)	60,900±0,879*
		здоровые крысы + NO (100 ppm)	55,650±1,732
		здоровые крысы + СК	131,918±3,045*
		здоровые крысы + ДНКЖ	108,110±2,654*
	митохондриальная фракция	здоровые крысы	40,241±2,015
		здоровые крысы + физ. р-р	39,918±1,270
		здоровые крысы + NO (20 ppm)	56,930±1,558*
		здоровые крысы + NO (50 ppm)	41,680±0,997
		здоровые крысы + NO (100 ppm)	25,650±0,974*
		здоровые крысы + СК	133,586±3,428*
		здоровые крысы + ДНКЖ	73,060±1,689*
Почки	гомогенат	здоровые крысы	106,546±4,379
		здоровые крысы + физ. р-р	107,028±2,013
		здоровые крысы + NO (20 ppm)	138,770±2,815*
		здоровые крысы + NO (50 ppm)	70,970±1,032*
		здоровые крысы + NO (100 ppm)	61,060±0,907*
		здоровые крысы + СК	151,297±2,365*
		здоровые крысы + ДНКЖ	148,370±1,190*
	цитоплазматическая фракция	здоровые крысы	39,281±2,151
		здоровые крысы + физ. р-р	40,033±1,677
		здоровые крысы + NO (20 ppm)	68,900±2,345*
		здоровые крысы + NO (50 ppm)	31,570±1,046*
		здоровые крысы + NO (100 ppm)	29,900±1,533*
		здоровые крысы + СК	84,390±3,005*
		здоровые крысы + ДНКЖ	57,880±2,642*
	митохондриальная фракция	здоровые крысы	38,797±1,354
		здоровые крысы + физ. р-р	38,564±2,060
		здоровые крысы + NO (20 ppm)	55,663±2,110*
		здоровые крысы + NO (50 ppm)	26,640±1,205*
		здоровые крысы + NO (100 ppm)	17,420±0,886*
		здоровые крысы + СК	54,317±3,112*
		здоровые крысы + ДНКЖ	64,810±2,517*
Сердце	гомогенат	здоровые крысы	25,465±1,348
		здоровые крысы + физ. р-р	25,731±2,025

		здоровые крысы + NO (20 ppm)	91,470±1,653*
		здоровые крысы + NO (50 ppm)	79,210±3,822*
		здоровые крысы + NO (100 ppm)	14,330±0,954*
		здоровые крысы + СК	90,294±4,006*
		здоровые крысы + ДНКЖ	104,180±3,172*
	цитоплазматическая фракция	здоровые крысы	67,981±2,008
		здоровые крысы + физ. р-р	68,003±1,779
		здоровые крысы + NO (20 ppm)	154,510±3,642*
		здоровые крысы + NO (50 ppm)	82,950±1,864*
		здоровые крысы + NO (100 ppm)	43,200±0,995*
		здоровые крысы + СК	295,760±6,011*
	митохондриальная фракция	здоровые крысы	162,262±4,381
		здоровые крысы + физ. р-р	161,954±1,277
		здоровые крысы + NO (20 ppm)	231,760±3,058*
		здоровые крысы + NO (50 ppm)	128,940±4,562*
		здоровые крысы + NO (100 ppm)	102,200±1,784*
		здоровые крысы + СК	198,160±3,007*
	легкие	гомогенат	здоровые крысы
здоровые крысы + физ. р-р			47,532±1,677
здоровые крысы + NO (20 ppm)			67,345±2,015*
здоровые крысы + NO (50 ppm)			15,430±0,762*
здоровые крысы + NO (100 ppm)			15,330±0,681*
здоровые крысы + СК			58,507±1,433*
здоровые крысы + ДНКЖ			66,790±2,045*
цитоплазматическая фракция		здоровые крысы	47,088±1,975
		здоровые крысы + физ. р-р	46,913±2,034
		здоровые крысы + NO (20 ppm)	59,102±1,655*
		здоровые крысы + NO (50 ppm)	25,240±0,895*
		здоровые крысы + NO (100 ppm)	29,730±2,004*
		здоровые крысы + СК	61,680±1,753*
митохондриальная фракция		здоровые крысы	65,174±2,053
		здоровые крысы + физ. р-р	65,233±1,346
		здоровые крысы + NO (20 ppm)	73,400±1,892*
		здоровые крысы + NO (50 ppm)	42,680±0,904*
		здоровые крысы + NO (100 ppm)	33,760±1,112*
	здоровые крысы + СК	81,581±2,040*	
	здоровые крысы + ДНКЖ	92,460±1,875*	

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ).

После ингаляций здоровых крыс 50ppm NO удельная активность АлДГ возросла в цитозоле печени (13,95% ( $p=0,034$ )), гомогенате (в 3,1 раза ( $p < 0,001$ )) и цитоплазматической фракции сердца (22,02% ( $p=0,036$ )), но уменьшилась в митохондриях сердца, субклеточных фракциях почек и легких. После ингаляций 100ppm NO здоровых крыс удельная активность АлДГ снизилась в гомогенате (9,92% ( $p=0,033$ )) и митохондриях (36,26 ( $p=0,018$ )) печени, субклеточных фракциях почек, легких, сердца по сравнению с активностью АлДГ здоровых крыс без воздействий.

В эритроцитах крови здоровых животных удельная активность АлДГ увеличилась после ингаляции 20ppm NO в 4,5 раза ( $p<0,001$ ), 50ppm NO – статистически значимо не изменилась, под влиянием 100ppm NO снизилась на 40,56% ( $p=0,013$ ) по сравнению с показателем крыс без лечения.

Рост удельной активности АлДГ и снижение АДГпр/АДГобр во всех субклеточных фракциях печени, почек, сердца и легких под влиянием ингаляций 20ppm NO способствовали уменьшению альдегида. Но снижение удельной активности АлДГ и повышение АДГпр/АДГобр во всех субклеточных фракциях печени, почек, сердца и легких под влиянием ингаляций 100ppm NO по сравнению с показателями крыс без воздействий привело к накоплению альдегидов.

Рост активности АлДГ в крови и органах при использовании 20 ppm NO вызвал снижение концентрации МДА в плазме (в 2,0 раза ( $p<0,001$ )) и эритроцитах (на 26,79% ( $p=0,025$ )), а также в субклеточных фракциях печени, почек и сердца. По сравнению с показателями крови интактных крыс в эритроцитах под влиянием 50 ppm NO концентрация МДА возросла на 7,90% ( $p=0,037$ ), при использовании 100 ppm NO – на 22,01% ( $p=0,028$ ) (табл. 69). При применении 20 ppm NO показатель S был понижен в плазме (на 11,45% ( $p=0,037$ )) и эритроцитах (на 25,95% ( $p=0,026$ )) (табл. 69) на фоне повышения ОАА, активности СОД, каталазы, ГР, Гл-6-фДГ (табл. 70).

Таблица 69

Показатели свободнорадикального окисления в крови здоровых крыс под влиянием активных форм кислорода и азота

Условия эксперимента	S в плазме, усл.ед.	S в эритроцитах, усл.ед.	МДА в плазме, мкмоль/л	МДА в эритроцитах, мкмоль/л
Здоровые крысы	11,205±0,137	8,537±0,103	0,904±0,016	8,937±0,088
Здоровые крысы + физ. р-р	11,198±0,095	8,542±0,036	0,897±0,008	8,941±0,052
Здоровые крысы + NO (20 ppm)	9,922±0,037*	6,322±0,019*	0,445±0,007*	6,543±0,061*
Здоровые крысы + NO (50 ppm)	11,248±0,205	9,154±0,027*	0,842±0,009*	9,643±0,052*
Здоровые крысы + NO (100 ppm)	13,702±0,316*	11,476±0,105*	0,855±0,010*	10,904±0,113*
Здоровые крысы + СК	10,540±0,062*	7,203±0,040*	0,608±0,005*	7,380±0,105*
Здоровые крысы + ДНКЖ	10,938±0,057	8,105±0,037*	0,530±0,011*	4,134±0,097*

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p<0,05$ ).

По данным биохемилюминесценции при воздействии 50 ppm NO интенсивность СРО возросла в эритроцитах на 7,23% ( $p=0,038$ ) по сравнению

с показателем здоровых крыс без лечения. Под влиянием 100 ppm NO СРО увеличилось в плазме и эритроцитах крови на 22,29% ( $p=0,034$ ) и 34,43% ( $p=0,025$ ). При этом отмечено компенсаторное повышение ОАА крови на 7,05% ( $p=0,036$ ) и активности СОД в эритроцитах на 4,77% ( $p=0,043$ ) после применения высоких концентраций NO (100ppm). Однако 100 ppm NO вызвали падение удельной активности каталазы, ГР, Гл-6-фДГ по сравнению с показателями крови здоровых крыс без лечения. Под влиянием 50 ppm NO активность СОД, ГР и Гл-6-фДГ компенсаторно возросли на 10,69% ( $p=0,037$ ), 33,04% ( $p=0,016$ ), 71,18% ( $p=0,013$ ) соответственно (табл. 70).

Таблица 70

Показатели антиоксидантной системы защиты крови у здоровых крыс под влиянием АФК и АФА

Условия эксперимента	tg2а, усл.ед.	СОД, %инг./мин ×мг белка	Каталаза, мкмольН <sub>2</sub> О <sub>2</sub> /мин×мг белка	ГР, нмоль НАДФН/мин ×мг белка	Гл-6-фДГ, нмоль НАДФН/мин ×мг белка
здоровые крысы	0,723±0,012	1037,762±21,351	39,512±0,903	95,833±2,324	40,571±0,464
+ физ. р-р	0,719±0,008	1036,953±14,107	39,507±0,104	96,007±1,508	40,605±0,527
+ NO (20 ppm)	0,882±0,010*	2341,914±9,856*	65,933±1,022*	163,282±5,779*	74,976±2,023*
+ NO (50 ppm)	0,729±0,007	1148,707±12,008*	37,763±0,450	127,491±4,016*	69,451±1,856*
+NO (100 ppm)	0,774±0,013*	1087,220±10,154*	33,461±0,328*	81,035±1,121*	28,887±0,953*
+ СК	0,953±0,020*	1634,071±20,113*	55,760±1,403*	144,590±3,716*	63,220±2,047*
+ ДНКЖ	0,853±0,011*	1801,533±16,028*	75,203±2,189*	156,773±5,008*	54,183±1,755*

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p<0,05$ ).

Таким образом, исследование биохимических показателей крови показало, что ингаляции 20ppm NO обладали антиоксидантными свойствами, ингаляции 100 ppm NO оказали прооксидантный эффект.

Под влиянием 20 ppm иNO концентрация МДА снизилась в гомогенате, цитозоле и митохондриях печени в 3,5 раза ( $p<0,001$ ), на 49,43% ( $p=0,005$ ), в 10,5 раза ( $p<0,001$ ), почек – на 11,84% ( $p=0,035$ ), 41,87% ( $p=0,022$ ), в 4,2 раза ( $p<0,001$ ), сердца – на 16,30% ( $p=0,039$ ), 4,13% ( $p=0,043$ ), 13,03% ( $p=0,036$ ) по сравнению с показателями здоровых крыс без лечения. Показатель S уменьшился после ингаляций 20 ppm NO по сравнению с показателями здоровых крыс без лечения в гомогенате, цитозоле и митохондриях печени на 27,39% ( $p=0,032$ ), 33,47% ( $p=0,026$ ), 25,89% ( $p=0,031$ ), почек – на 13,31% ( $p=0,038$ ), 29,60% ( $p=0,030$ ), 45,34% ( $p=0,012$ ), сердца – на 36,46% ( $p=0,017$ ),

6,47% ( $p=0,039$ ), в 2,2 раза ( $p<0,001$ ) соответственно (табл. 71). Показано, что ингаляции 20 ppm NO обладают антиоксидантными свойствами, проявляющимися в ингибировании СРО в печени, почках, сердце.

После ингаляций 50 ppm NO по сравнению с показателями здоровых крыс без лечения концентрация МДА увеличилась в гомогенате (13,88% ( $p=0,039$ )) и цитозоле (40,41% ( $p=0,032$ )) почек, цитозоле (5,30% ( $p=0,042$ )) сердца, гомогенате (78,18% ( $p=0,015$ )) и митохондриях (38,13% ( $p=0,024$ )) легких. Показано, что ингаляции 50 ppm NO по сравнению с показателями здоровых крыс без лечения оказали разнонаправленное действие на показатель S в субклеточных фракциях органов: уменьшение в гомогенате, цитозоле, митохондриях печени, гомогенате почек, гомогенате и митохондриях сердца, увеличение в митохондриях почек, цитозоле сердца, субклеточных фракциях легких.

Под влиянием 100 ppm NO по сравнению с показателями здоровых крыс без лечения концентрация МДА увеличилась в гомогенате, цитозоле и митохондриях почек, сердца, легких, цитозоле печени, показатель светосуммы S возрос в субклеточных фракциях органов (табл. 71). Следовательно, ингаляции 100 ppm NO обладали прооксидантными свойствами, проявляющимися в активации СРО в почках, сердце и легких.

Таблица 71

Показатели свободнорадикального окисления в органах крыс  
под влиянием АФК и АФА

Орган	Субклеточная фракция	Условия эксперимента	S, усл.ед.	МДА, мкмоль/л
Печень	гомогенат	здоровые крысы	10,494±0,131	9,191±0,115
		здоровые крысы + физ. р-р	10,502±0,078	9,200±0,136
		здоровые крысы + NO (20 ppm)	7,620±0,057*	2,597±0,020*
		здоровые крысы + NO (50 ppm)	9,431±0,202*	2,255±0,009*
		здоровые крысы + NO (100 ppm)	12,201±0,150*	6,906±0,078*
		здоровые крысы + СК	6,510±0,068*	6,184±0,056*
		здоровые крысы + ДНКЖ	4,135±0,047*	3,724±0,011*
	цитоплазматическая фракция	здоровые крысы	5,930±0,104	5,675±0,064
		здоровые крысы + физ. р-р	5,942±0,036	5,668±0,030
		здоровые крысы + NO (20 ppm)	3,945±0,028*	2,870±0,008*
		здоровые крысы + NO (50 ppm)	4,140±0,033*	4,374±0,010*
		здоровые крысы + NO (100 ppm)	11,007±0,096*	6,607±0,055*
		здоровые крысы + СК	3,978±0,014*	3,615±0,008*
		здоровые крысы + ДНКЖ	3,965±0,037*	2,153±0,012*
	митохондриальная фракция	здоровые крысы	5,640±0,076	3,579±0,027
		здоровые крысы + физ. р-р	5,647±0,058	3,568±0,020

		здоровые крысы + NO (20 ppm)	4,180±0,077*	0,342±0,013*
		здоровые крысы + NO (50 ppm)	3,255±0,041*	1,546±0,009*
		здоровые крысы + NO (100 ppm)	10,126±0,350*	1,059±0,007*
		здоровые крысы + СК	4,301±0,097*	1,003±0,006*
		здоровые крысы + ДНКЖ	1,280±0,011*	0,137±0,005*
почки	гомогенат	здоровые крысы	8,040±0,037	8,371±0,065
		здоровые крысы + физ. p-p	8,033±0,025	8,364±0,202
		здоровые крысы + NO (20 ppm)	6,970±0,038*	7,380±0,147*
		здоровые крысы + NO (50 ppm)	7,790±0,016*	9,533±0,310*
		здоровые крысы + NO (100 ppm)	10,764±0,233*	9,891±0,255*
		здоровые крысы + СК	5,180±0,076*	5,672±0,134*
		здоровые крысы + ДНКЖ	6,795±0,105*	6,150±0,107*
		цитоплазматическая фракция	здоровые крысы	4,595±0,084
	здоровые крысы + физ. p-p		4,602±0,037	4,042±0,020
	здоровые крысы + NO (20 ppm)		3,235±0,026*	2,345±0,019*
	здоровые крысы + NO (50 ppm)		4,455±0,043	5,664±0,033*
	здоровые крысы + NO (100 ppm)		10,180±0,152*	7,432±0,060*
	здоровые крысы + СК		4,275±0,099*	2,164±0,013*
	митохондриальная фракция	здоровые крысы	3,880±0,075*	3,329±0,010*
		здоровые крысы + физ. p-p	3,220±0,075	3,784±0,027
		здоровые крысы + NO (20 ppm)	3,215±0,103	3,793±0,015
		здоровые крысы + NO (50 ppm)	1,760±0,028*	0,897±0,008*
		здоровые крысы + NO (100 ppm)	4,595±0,081*	2,281±0,014*
		здоровые крысы + СК	7,182±0,037*	6,399±0,070*
		здоровые крысы + СК	2,410±0,025*	0,889±0,007*
		здоровые крысы + ДНКЖ	2,990±0,017*	2,025±0,009*
сердце	гомогенат	здоровые крысы	6,130±0,092	6,921±0,068
		здоровые крысы + физ. p-p	6,127±0,111	6,917±0,022
		здоровые крысы + NO (20 ppm)	3,895±0,012*	5,793±0,010*
		здоровые крысы + NO (50 ppm)	4,170±0,016*	5,638±0,020*
		здоровые крысы + NO (100 ppm)	9,667±0,102*	11,055±0,018*
		здоровые крысы + СК	4,485±0,013*	5,327±0,023*
		здоровые крысы + ДНКЖ	4,785±0,011*	4,483±0,019*
		цитоплазматическая фракция	здоровые крысы	3,184±0,052
	здоровые крысы + физ. p-p		3,192±0,009	4,619±0,015
	здоровые крысы + NO (20 ppm)		2,978±0,021*	4,433±0,021*
	здоровые крысы + NO (50 ppm)		3,570±0,015*	4,869±0,030*
	здоровые крысы + NO (100 ppm)		3,640±0,027*	9,751±0,133*
	здоровые крысы + СК		2,695±0,013*	3,557±0,038*
	здоровые крысы + ДНКЖ		2,065±0,020*	2,255±0,011*
	митохондриальная фракция	здоровые крысы	1,573±0,008	2,211±0,017
		здоровые крысы + физ. p-p	1,568±0,010	2,208±0,015
		здоровые крысы + NO (20 ppm)	0,705±0,007*	1,923±0,008*
		здоровые крысы + NO (50 ppm)	1,135±0,010*	2,025±0,012*
		здоровые крысы + NO (100 ppm)	2,700±0,009*	3,755±0,030*
		здоровые крысы + СК	1,210±0,005*	1,333±0,015*
		здоровые крысы + ДНКЖ	1,080±0,013*	1,128±0,010*
легкие	гомогенат	здоровые крысы	5,261±0,213	4,890±0,208
		здоровые крысы + физ. p-p	5,257±0,104	4,886±0,095
		здоровые крысы + NO (20 ppm)	5,150±0,126	5,202±0,113
		здоровые крысы + NO (50 ppm)	7,065±0,038*	8,713±0,121*
		здоровые крысы + NO (100 ppm)	10,789±0,200*	6,714±0,150*
		здоровые крысы + СК	5,980±0,017*	4,997±0,040
		здоровые крысы + ДНКЖ	5,190±0,035	3,332±0,028*
		цитоплазматическая фракция	здоровые крысы	3,015±0,106
	здоровые крысы + физ. p-p		3,021±0,020	3,234±0,107
	здоровые крысы + NO (20 ppm)		3,630±0,014*	3,589±0,132
	здоровые крысы + NO (50 ppm)		4,955±0,011*	3,645±0,202
	здоровые крысы + NO (100 ppm)		4,225±0,016*	5,407±0,113*

	митохондриальная фракция	здоровые крысы + СК	2,110±0,014*	3,431±0,120
		здоровые крысы + ДНКЖ	1,780±0,015*	2,567±0,048*
		здоровые крысы	2,497±0,335	1,668±0,107
		здоровые крысы + физ. р-р	2,503±0,027	1,672±0,059
		здоровые крысы + NO (20 ppm)	2,370±0,041	1,786±0,113
		здоровые крысы + NO (50 ppm)	3,550±0,106*	2,304±0,120*
		здоровые крысы + NO (100 ppm)	6,213±0,147*	2,462±0,059*
		здоровые крысы + СК	1,761±0,088*	1,026±0,010*
		здоровые крысы + ДНКЖ	1,582±0,113*	0,820±0,009*

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами (p<0,05).

Выявлены антиоксидантные свойства ингаляций 20 ppm NO, проявляющиеся в росте ОАА, удельной активности СОД, каталазы, ГР, Гл-6-фДГ в субклеточных фракциях печени, почек, сердца, легких по сравнению с показателями крыс без лечения (табл. 72).

Таблица 72

Общая антиоксидантная активность и удельная активность ферментов в субклеточных фракциях органов здоровых крыс под влиянием АФК и АФА

орган	Субклеточная фракция	Условия эксперимента	tg2а, усл.ед.	СОД, %инг/мин ×мг белка	Каталаза, Мкмоль Н <sub>2</sub> О <sub>2</sub> /мин ×мг белка	ГР, нмоль НАДФН/мин×мг белка	Гл-6-фДГ, нмоль НАДФН/мин×мг белка
Печень	гомогенат	Здоровые крысы	0,858 ±0,012	1744,894 ±15,058	43,864 ±1,213	62,810 ±2,524	417,190 ±9,213
		+ физ. р-р	0,860 ±0,020	1745,236 ±10,118	43,537 ±2,008	63,005 ±1,346	416,853 ±4,027
		+ NO (20 ppm)	1,472 ±0,018*	2916,670 ±13,433*	58,411 ±0,564*	93,530 ±3,012*	528,240 ±10,032*
		+ NO (50 ppm)	1,052 ±0,009*	2083,331 ±42,207*	59,680 ±2,005*	87,642 ±2,537*	531,860 ±8,629*
		+ NO (100 ppm)	0,841 ±0,010	1725,140 ±9,683	24,276 ±1,331*	51,030 ±1,694*	300,620 ±4,115*
		+ СК	1,055 ±0,023*	2076,327 ±21,045*	69,748 ±3,012*	82,640 ±3,055*	498,740 ±4,322*
		+ ДНКЖ	0,993 ±0,008*	3017,240 ±20,155*	73,431 ±1,968*	77,353 ±1,859*	541,450 ±11,023*
	цитоплазматическая	Здоровые крысы	0,699 ±0,006	1701,040 ±24,498	40,555 ±1,334	61,451 ±3,016	245,888 ±6,105
		+ физ. р-р	0,701 ±0,005	1703,270 ±14,132	40,286 ±2,544	60,995 ±1,897	246,013 ±5,123
		+ NO (20 ppm)	1,294 ±0,013*	2047,648 ±18,903*	63,911 ±3,007*	89,730 ±2,654*	350,050 ±9,576*
		+ NO (50 ppm)	1,113 ±0,010*	3125,003 ±30,472*	61,540 ±2,103*	75,280 ±4,306*	329,860 ±11,003*
		+ NO (100 ppm)	0,577 ±0,014*	2884,620 ±13,359*	43,883 ±2,905	49,272 ±2,318*	130,630 ±6,758*
		+ СК	0,905 ±0,008*	2448,263 ±32,751*	107,093 ±6,114*	70,660 ±3,045*	297,680 ±11,340*
		+ ДНКЖ	0,911 ±0,009*	2604,17 ±28,965*	62,310 ±1,559*	92,133 ±3,057*	312,750 ±8,634*
	митохондриальная	Здоровые крысы	0,668 ±0,007	1577,134 ±28,831	19,025 ±1,011	9,554 ±0,554	177,235 ±3,994
		+ физ. р-р	0,670 ±0,005	1580,025 ±12,874	18,992 ±0,964	9,387 ±0,245	176,893 ±5,016

		+ NO (20 ppm)	1,681 ±0,015*	2129,715 ±25,458*	58,661 ±3,011*	17,865 ±1,203*	760,990 ±21,147*
		+ NO (50 ppm)	0,859 ±0,011*	2000,003 ±10,876*	57,190 ±2,113*	15,974 ±0,876*	549,310 ±18,276*
		+ NO (100 ppm)	0,453 ±0,008*	1962,501 ±21,885*	36,515 ±1,978*	8,634 ±0,590	197,620 ±8,039*
		+ СК	0,769 ±0,020*	1873,733 ±40,002*	90,780 ±4,006*	14,670 ±1,438*	384,310 ±12,376*
		+ ДНКЖ	0,872 ±0,010*	1995,240 ±31,045*	60,082 ±1,495*	18,030 ±2,005*	576,570 ±18,904*
Почки	гомогенат	Здоровые крысы	0,598 ±0,010	1342,058 ±40,356	29,783 ±2,042	74,704 ±3,006	545,675 ±8,093
		+ физ. р-р	0,599 ±0,013	1340,769 ±18,052	29,564 ±1,307	75,112 ±3,004	546,023 ±15,364
		+ NO (20 ppm)	1,180 ±0,023*	2094,210 ±30,315*	104,581 ±12,331*	89,088 ±4,215*	977,960 ±20,038*
		+ NO (50 ppm)	1,002 ±0,009*	2227,030 ±18,455*	73,125 ±2,131*	96,552 ±3,118*	779,985 ±22,106*
		+ NO (100 ppm)	0,423 ±0,007*	2288,89 ±30,041*	26,476 ±1,503	63,744 ±2,956*	286,390 ±11,017*
		+ СК	1,546 ±0,014*	2136,54 ±27,103*	36,740 ±2,185	143,425 ±4,008*	709,275 ±18,543*
		+ ДНКЖ	1,307 ±0,018*	1776,000 ±35,224*	38,362 ±3,071*	99,057 ±3,688*	671,270 ±14,685*
	цитоплазматическая	Здоровые крысы	0,306 ±0,008	1014,833 ±12,538	29,638 ±1,017	45,213 ±1,031	241,975 ±6,607
		+ физ. р-р	0,305 ±0,010	1015,246 ±9,863	29,557 ±0,863	45,482 ±2,316	242,357 ±22,004
		+ NO (20 ppm)	1,379 ±0,015*	1313,912 ±10,045*	101,675 ±2,148*	80,320 ±4,012*	473,550 ±15,632*
		+ NO (50 ppm)	0,751 ±0,008*	2390,630 ±21,454*	82,440 ±3,215*	76,370 ±1,982*	303,180 ±10,799*
		+ NO (100 ppm)	1,115 ±0,009*	2520,000 ±17,683*	43,003 ±1,212*	41,057 ±0,995	112,070 ±4,355*
		+ СК	0,668 ±0,005*	4094,741 ±32,321*	117,562 ±5,348*	153,296 ±2,847*	291,930 ±6,027*
		+ ДНКЖ	0,962 ±0,012*	2715,392 ±26,106*	77,750 ±3,116*	122,380 ±5,874*	336,470 ±11,025*
	митохондриальная	Здоровые крысы	0,436 ±0,013	932,174 ±30,021	24,015 ±2,004	37,072 ±2,004	345,672 ±9,038
		+ физ. р-р	0,440 ±0,020	929,875 ±14,113	24,336 ±0,887	36,572 ±1,468	346,155 ±5,897
		+ NO (20 ppm)	1,274 ±0,016*	1306,344 ±12,745*	88,965 ±4,273*	73,602 ±3,115*	567,540 ±12,378*
		+ NO (50 ppm)	1,043 ±0,021*	2575,003 ±34,268*	29,720 ±1,564	49,115 ±0,897*	431,055 ±9,044*
		+ NO (100 ppm)	0,962 ±0,015*	2087,101 ±29,224*	46,315 ±2,279*	32,850 ±1,030	183,225 ±5,016*
		+ СК	0,881 ±0,017*	1930,430 ±17,865*	35,422 ±1,106*	105,675 ±4,189*	464,570 ±10,633*
		+ ДНКЖ	0,818 ±0,009*	3326,092 ±40,516*	56,480 ±3,017*	61,290 ±3,202*	585,780 ±20,006*
Сердце	гомогенат	Здоровые крысы	0,329 ±0,006	1627,293 ±43,658	22,612 ±1,231	55,078 ±3,301	344,465 ±7,012
		+ физ. р-р	0,330 ±0,010	1630,027 ±25,114	22,543 ±0,677	54,896 ±2,732	345,277 ±6,015
		+ NO (20 ppm)	0,969 ±0,015*	1815,338 ±14,009*	58,100 ±1,213*	97,935 ±8,027*	482,960 ±8,010*
		+ NO (50 ppm)	0,505 ±0,008*	3060,003 ±42,115*	38,822 ±1,068*	104,120 ±5,035*	479,560 ±9,224*
		+ NO (100 ppm)	0,328 ±0,011	2125,000 ±23,427*	9,168 ±0,074*	46,330 ±1,124*	169,650 ±3,004*

		+ СК	0,540 ±0,013*	2593,751 ±37,420*	44,585 ±2,006*	105,770 ±4,815*	397,642 ±3,859*
		+ ДНКЖ	0,477 ±0,015*	2353,330 ±26,018*	39,245 ±1,110*	112,370 ±3,062*	406,690 ±8,715*
	цитоплазм атическая	Здоровые крысы	0,294 ±0,006	1345,507 ±33,754	15,261 ±1,120	42,825 ±1,996	234,675 ±4,557
		+ физ. р-р	0,293 ±0,012	1344,624 ±20,358	15,375 ±0,226	42,775 ±0,894	235,109 ±11,034
		+ NO (20 ppm)	0,832 ±0,016*	1903,615 ±17,284*	46,825 ±1,130*	59,250 ±2,014*	545,880 ±21,135*
		+ NO (50 ppm)	0,464 ±0,008*	3485,190 ±41,255*	23,502 ±0,876*	78,140 ±3,326*	345,410 ±16,207*
		+ NO (100 ppm)	0,218 ±0,007*	2746,671 ±32,159*	16,050 ±0,647	50,220 ±1,103*	175,390 ±8,185*
		+ СК	0,425 ±0,011*	2352,500 ±23,481*	45,752 ±1,048*	88,576 ±4,201*	655,430 ±23,107*
		+ ДНКЖ	0,371 ±0,006*	2543,242 ±19,156*	25,425 ±0,769*	104,360 ±7,325*	345,490 ±9,118*
		митохонд риальная	Здоровые крысы	0,224 ±0,021	1574,752 ±27,859	11,174 ±0,907	26,613 ±1,018
	+ физ. р-р		0,225 ±0,017	1576,395 ±14,812	11,336 ±0,450	26,759 ±1,328	196,078 ±5,284
	+ NO (20 ppm)		0,757 ±0,014*	2627,263 ±18,905*	34,893 ±1,107*	70,655 ±3,153*	243,290 ±6,002*
	+ NO (50 ppm)		0,769 ±0,008*	2833,330 ±20,755*	18,220 ±0,314*	58,347 ±1,920*	437,350 ±21,103*
	+ NO (100 ppm)		0,666 ±0,012*	2470,002 ±35,004*	6,375 ±0,229*	21,196 ±0,879*	152,500 ±6,785*
	+ СК		0,830 ±0,009*	2680,950 ±27,102*	30,407 ±2,120*	96,147 ±4,235*	283,597 ±16,176*
	+ ДНКЖ		0,677 ±0,008*	2204,171 ±40,005*	20,335 ±0,488*	88,030 ±3,715*	243,480 ±12,559*
легкие	гомогенат		Здоровые крысы	0,286 ±0,016	875,012 ±12,786	23,917 ±1,046	49,230 ±2,012
		+ физ. р-р	0,291 ±0,010	877,334 ±15,026	23,655 ±0,903	50,047 ±1,865	139,764 ±7,359
		+ NO (20 ppm)	0,690 ±0,013*	1367,578 ±31,249*	50,557 ±2,114*	99,476 ±6,325*	568,500 ±23,486*
		+ NO (50 ppm)	0,445 ±0,015*	2318,180 ±26,429*	41,992 ±0,995*	87,553 ±4,150*	241,160 ±11,748*
		+ NO (100 ppm)	0,376 ±0,005*	2125,002 ±20,983*	37,350 ±1,028*	54,230 ±1,016	109,050 ±8,563*
		+ СК	0,545 ±0,011*	1440,741 ±32,506*	36,773 ±2,114*	269,120 ±22,347*	238,943 ±21,172*
		+ ДНКЖ	0,517 ±0,013*	3582,610 ±19,433*	47,350 ±3,302*	141,080 ±10,155*	233,670 ±16,804*
		цитоплазм атическая	Здоровые крысы	0,219 ±0,015	739,970 ±19,279	18,907 ±0,996	28,315 ±1,001
	+ физ. р-р		0,220 ±0,008	740,815 ±15,013	18,543 ±0,527	28,465 ±0,794	101,985 ±13,042
	+ NO (20 ppm)		0,745 ±0,012*	1407,918 ±21,346*	54,873 ±1,220*	42,063 ±0,897*	345,810 ±21,102*
	+ NO (50 ppm)		0,387 ±0,011*	1653,130 ±30,144*	34,721 ±0,963*	57,630 ±2,004*	141,270 ±9,453*
	+ NO (100 ppm)		0,346 ±0,007*	2637,931 ±28,518*	18,503 ±0,642	31,040 ±0,875	69,130 ±4,287*
	+ СК		0,516 ±0,014*	1570,295 ±34,036*	55,190 ±1,117*	103,353 ±10,271*	326,095 ±18,457*
	+ ДНКЖ		0,413 ±0,007*	3069,570 ±41,218*	52,471 ±1,235*	87,640 ±4,128*	195,490 ±7,655*
	митохонд риальная		Здоровые крысы	0,221 ±0,016	814,027 ±12,334	16,917 ±0,352	23,133 ±1,204

	+ физ. р-р	0,219 ±0,003	815,247 ±9,236	17,005 ±0,436	22,978 ±0,754	36,017 ±1,105
	+ NO (20 ppm)	1,008 ±0,012*	1455,012 ±30,638*	47,567 ±2,324*	86,790 ±3,115*	166,520 ±12,134*
	+ NO (50 ppm)	0,879 ±0,020*	3582,611 ±47,034*	35,890 ±1,245*	46,790 ±1,335*	104,060 ±7,108*
	+ NO (100 ppm)	0,436 ±0,014*	4091,302 ±50,176*	17,792 ±0,658	20,350 ±0,784	22,510 ±0,435*
	+ СК	0,668 ±0,009*	2336,840 ±25,217*	57,730 ±2,005*	94,801 ±5,032*	145,180 ±9,723*
	+ ДНКЖ	1,196 ±0,015*	1604,551 ±27,008*	77,463 ±4,116*	71,042 ±2,647*	153,245 ±11,076*

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ).

Показано повышение ОАА, удельной активности СОД, каталазы, ГР, Гл-6-фДГ в субклеточных фракциях печени, почек, сердца и легких здоровых животных после ингаляций 50 ppm NO по сравнению с показателями интактных крыс (табл. 72). Удельная активность СОД после ингаляций 100 ppm NO по сравнению с показателями интактных крыс возросла в гомогенате, цитозоле, митохондриях почек – на 70,55% ( $p=0,012$ ), в 2,5 раза ( $p < 0,001$ ), в 2,2 раза ( $p < 0,001$ ), сердца – на 30,59% ( $p=0,027$ ), в 2,0 раза ( $p < 0,001$ ), на 56,85% ( $p=0,020$ ), легких – в 2,4 раза ( $p < 0,001$ ), в 3,6 раза ( $p < 0,001$ ), в 5,0 раз ( $p < 0,001$ ), цитозоле и митохондриях печени на 69,58% ( $p=0,015$ ), 24,43% ( $p=0,036$ ). Выявлено разнонаправленное изменение ОАА, активности каталазы, ГР в субклеточных фракциях органов здоровых крыс под влиянием 100 ppm NO по сравнению с показателями интактных крыс. После ингаляций здоровых животных 100 ppm NO активность Гл-6-фДГ в субклеточных фракциях печени, почек, сердца, легких снизилась.

### **3.2.2.2. Влияние динитрозильных комплексов железа на особенности регуляции оксидоредуктаз крови и органов здоровых крыс**

При введении здоровым крысам ДНКЖ по сравнению с показателями крови крыс без воздействий концентрация лактата в плазме и эритроцитах уменьшилась на 42,61% ( $p=0,019$ ) и 36,64% ( $p=0,025$ ), концентрация глюкозы снизилась в плазме на 31,34% ( $p=0,026$ ), эритроцитах – на 38,80% ( $p=0,022$ ) (табл. 64). Под влиянием ДНКЖ в эритроцитах крови здоровых животных отмечен рост ЛДГпр на 98,79% ( $p=0,003$ ), ЛДГобр – на 32,71% ( $p=0,034$ ), КБЭР – в 2,2 раза ( $p < 0,001$ ) (табл. 65). Удельная активность ЛДГпр, ЛДГобр

возросла в органах после введения ДНКЖ по сравнению с показателями крыс без воздействий, при этом КБЭР увеличился в гомогенате почек, сердца, легких на 20,19% ( $p=0,027$ ), 11,38% ( $p=0,071$ ), 73,50% ( $p=0,022$ ).

В митохондриях печени, почек, сердца и легких здоровых животных по сравнению с показателями крыс без воздействий ДНКЖ вызвали повышение удельной активности СДГ на 23,28% ( $p=0,034$ ), в 2,2 раза ( $p<0,001$ ), в 2,2 раза ( $p<0,001$ ), на 67,93% ( $p=0,011$ ), цитохром *c* оксидазы – на 38,54% ( $p=0,026$ ), 53,35% ( $p=0,018$ ), 25,53% ( $p=0,029$ ), 34,58% ( $p=0,021$ ) соответственно (табл. 66). После введения ДНКЖ по сравнению с показателями крыс без воздействий удельная активность АДГпр, АДГобр возросла в субклеточных фракциях печени, почек, сердца, легких, соотношение АДГпр/АДГобр уменьшилось в гомогенате, цитозоле, митохондриях печени на 14,91% ( $p=0,031$ ), 11,63% ( $p=0,041$ ), 49,22% ( $p=0,001$ ), почек – в 2,1 раза ( $p<0,001$ ), на 14,90% ( $p=0,036$ ), 27,10% ( $p=0,025$ ), сердца – на 24,34% ( $p=0,022$ ), 20,62% ( $p=0,031$ ), 28,07% ( $p=0,027$ ) соответственно, в цитозоле легких – на 31,43% ( $p=0,021$ ) (табл. 67). Удельная активность АлДГ после воздействия ДНКЖ по сравнению с показателями интактных крыс увеличилась в субклеточных фракциях печени, почек, сердца, легких, эритроцитах (табл. 68). Под влиянием ДНКЖ по сравнению с показателями интактных крыс концентрация МДА в плазме и эритроцитах снизилась на 41,37% ( $p=0,020$ ) и в 2,2 раза ( $p<0,001$ ) соответственно, показатель *S* уменьшился в эритроцитах на 5,06% ( $p=0,034$ ) (табл. 69). Под влиянием ДНКЖ отмечен рост ОАА (17,98% ( $p=0,030$ )), активности СОД (73,60% ( $p=0,015$ )), каталазы (90,33% ( $p=0,001$ )), ГР (63,59% ( $p=0,027$ )), Гл-6-фДГ (33,55% ( $p=0,034$ )) по сравнению с параметрами крови интактных крыс (табл. 70). Выявлено, что 0,3 мкмоль/л ДНКЖ обладали антигипоксическим, гипогликемическим действием, детоксикационными и антиоксидантными свойствами.

Активация АлДГ в паренхиматозных органах под влиянием ДНКЖ привела к снижению концентрации МДА в гомогенате, цитоплазматической фракции и митохондриях органов. Показатель *S* уменьшился после

воздействия ДНКЖ по сравнению с показателями здоровых крыс без лечения в субклеточных фракциях печени, почек, сердца, цитозоле и митохондриях легких (табл. 71). По сравнению с показателями интактных крыс под влиянием ДНКЖ увеличилась ОАА, активность СОД, каталазы, ГР, Гл-6-фДГ в субклеточных фракциях печени, почек, сердца, легких (табл. 72).

### **3.2.2.3. Влияние ингаляций синглетного кислорода на активность окислительно-восстановительных ферментов крови и органов крыс**

Отмечено снижение в плазме и эритроцитах крови здоровых крыс после ингаляций СК содержания лактата на 38,51% ( $p=0,020$ ), 49,69% ( $p=0,005$ ) и глюкозы – на 29,92% ( $p=0,030$ ), 40,02% ( $p=0,013$ ) соответственно по сравнению с показателями крови крыс без воздействий (табл. 64), что свидетельствует о гипогликемическом и антигипоксическом эффекте СК при мощности генератора 100%. Это, вероятно, обусловлено повышением ЛДГпр, ЛДГобр, КБЭР в крови после ингаляций СК на 61,18% ( $p=0,023$ ), 14,45% ( $p=0,038$ ), 98,05% ( $p=0,005$ ) (табл. 65).

После ингаляций здоровых животных СК по сравнению с показателями крыс без воздействий удельная активность ЛДГпр, ЛДГобр, КБЭР увеличились в гомогенате органов. Ингаляции СК здоровых животных по сравнению с показателями крыс без воздействий вызвали в митохондриях печени, почек, сердца и легких повышение удельной активности СДГ на 43,22% ( $p=0,025$ ), 26,67% ( $p=0,028$ ), 36,86% ( $p=0,023$ ), 26,99% ( $p=0,030$ ), цитохром *c* оксидазы – на 28,48% ( $p=0,027$ ), в 2,4 раза ( $p<0,001$ ), в 3,2 раза ( $p<0,001$ ), на 23,20% ( $p=0,034$ ) соответственно (табл. 66).

После ингаляций СК во всех субклеточных фракциях печени, почек, сердца и легких здоровых животных удельная активность АДГпр, АДГобр увеличилась, соотношение АДГпр/АДГобр уменьшилось в гомогенате, цитозоле, митохондриях печени на 8,48% ( $p=0,036$ ), 5,47% ( $p=0,083$ ), 21,25% ( $p=0,028$ ), почек – в 2,6 раза ( $p<0,001$ ), на 13,46% ( $p=0,031$ ), 41,12% ( $p=0,012$ ), в гомогенате и митохондриях сердца – на 15,73% ( $p=0,038$ ), 8,33% ( $p=0,070$ ), легких – на 12,36% ( $p=0,041$ ), 29,73% ( $p=0,026$ ) (табл. 67). Удельная

активность АлДГ увеличилась после ингаляций СК по сравнению с показателями интактных крыс в эритроцитах, гомогенате, цитозоле, митохондриях органов (табл. 68). Под влиянием СК концентрация МДА и показатель светосуммы  $S$  в плазме и эритроцитах снизились по сравнению с показателями интактных крыс (табл. 69). Под влиянием СК отмечен рост ОАА (31,81% ( $p=0,028$ )), активности СОД (57,46% ( $p=0,019$ )), каталазы (41,12% ( $p=0,033$ )), ГР (50,88% ( $p=0,023$ )), Гл-6-фДГ (55,83% ( $p=0,021$ )) (табл. 70). После ингаляций СК концентрация МДА уменьшилась в субклеточных фракциях органов, показатель  $S$  – в гомогенате, цитозоле и митохондриях печени, почек, сердца, цитозоле и митохондриях легких (табл. 71). ОАА, удельная активность СОД, каталазы, ГР, Гл-6-фДГ увеличились после ингаляций СК по сравнению с показателями интактных крыс в гомогенате, цитозоле, митохондриях печени, почек, сердца, легких (табл. 72).

Таким образом, проведенное исследование на здоровых крысах свидетельствовало о стимулирующем окислительный и энергетический метаболизм крови и органов воздействию АФК, при этом для иNO выявлен дозозависимый эффект действия. Установлено, что ДНКЖ в концентрации 0,3 мкмоль/л, ингаляции 20ppm NO и СК обладали гипогликемическим, антигипоксическим действием, детоксикационными (повышение активности АлДГ, снижение концентрации МДА, АДГпр/АДГобр) и антиоксидантными свойствами (увеличение ОАА и активности СОД, каталазы, ГР и Гл-6-фДГ в крови, субклеточных фракциях паренхиматозных органов), активировали ферменты ЭТЦ митохондрий. Наибольшее уменьшение показателя  $S$  после ингаляций 20 ppm NO, СК, ДНКЖ наблюдалось в печени. Максимальный рост активности АлДГ под влиянием ДНКЖ, СК и после ингаляции NO в концентрации 20ppm отмечен в сердце, минимальный – в легких.

Ингаляции здоровых крыс 100 ppm NO обладали прооксидантными свойствами, проявляющимися в активации СРО в почках, сердце и легких и снижении активности антиоксидантных ферментов и ОАА в органах, токсическим эффектом (снижение удельной активности АлДГ, повышение

АДГпр/АДГобр во всех субклеточных фракциях печени, почек, сердца и легких), вызвали лактатацидоз и гипергликемию, снижение энергетического метаболизма в митохондриях.

### **3.2.3. Хроническое воздействие активных форм кислорода и азота на каталитические свойства оксидоредуктаз здоровых крыс**

#### **3.2.3.1. Длительное воздействие ингаляций NO на особенности регуляции оксидоредуктаз крови и органов крыс**

Для патогенеза большинства заболеваний характерно снижение активности АОС, повышенное образование АФК и АФА, которые вызывают развитие ОС, НС и КС [181; 245; 365; 833]. С другой стороны АФК, NO, как универсальные биорегуляторы [486; 667; 811], применяют в биологии и медицине [227; 707; 757] для профилактики и терапии при недостаточном образовании NO эндотелиальными клетками [1; 319; 365; 833]. Однако, избыток NO может привести к тяжелым осложнениям в результате образования токсичных соединений [581; 757], а использование АФК может вызвать гиперстимуляцию окислительного метаболизма, системное поражение органов и тканей [811]. Поэтому применение АФК и АФА с терапевтическими целями диктует необходимость исследования СРО и активности окислительно-восстановительных ферментов [212; 277; 365]. Задачами исследования хронического воздействия АФК были: 1) установление характера и степени выраженности лечебного или повреждающего действия АФК на организм по показателям окислительного и энергетического метаболизма; 2) определение оптимальных терапевтических, переносимых и токсических доз АФК; 3) выявление чувствительных к АФК органов и систем; 4) изучение обратимости вызываемых изменений для дальнейшего использования оптимальных доз на модели травматического стресса [365]. Исследование процессов липопероксидации в плазме крови животных показало повышение показателя S при использовании NO 30 суток в концентрации 50ppm на

31,46% ( $p=0,037$ ), при 100ppm – на 43,18% ( $p=0,023$ ) по сравнению с интактными животными (рис. 53).

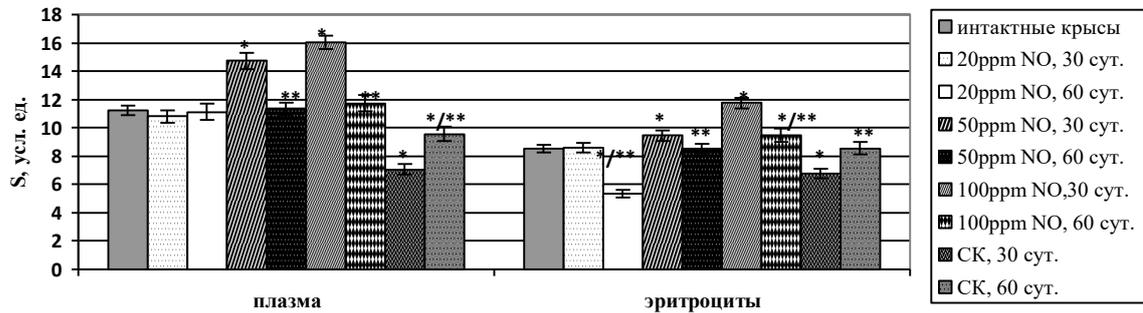


Рис. 53. Показатель S в крови крыс при хроническом воздействии АФК

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ( $p<0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 30 сутками ( $p<0,05$ ).

При этом показатель S в плазме крови после ингаляционно-наружного применения 20ppm NO на протяжении 30 суток и после отмены воздействия (60 суток) статистически значимо не отличался от значения интактных животных. На протяжении восстановительного периода (60 суток) отмечена нормализация ПОЛ при применении 50ppm и 100ppm NO, под воздействием которых показатель S уменьшился на 22,93% ( $p=0,034$ ) и 26,91% ( $p=0,025$ ) соответственно по сравнению с данными полученными на 30 сутки.

Светосумма хемилюминесценции в эритроцитах крови крыс увеличилась при ингаляционно-наружном использовании 50ppm NO на протяжении 30 суток на 10,60% ( $p=0,039$ ), 100ppm – на 37,64% ( $p=0,025$ ) (рис. 53), что свидетельствовало об интенсификации кислородзависимых процессов, обуславливающих СРО мембран эритроцитов при воздействии высоких концентраций NO. Длительное применение NO может привести к изменению проницаемости биологических мембран, нарушению их ионного транспорта, физико-химических свойств мембранных белков и липидов, активности мембранно-связанных ферментов [358; 365]. Через 60 суток после применения NO ПОЛ в эритроцитах было ниже показателей S крыс, получавших ингаляции 30 суток: при 50ppm NO – на 9,44% ( $p=0,041$ ), 100ppm NO – на 19,64% ( $p=0,031$ ), что свидетельствовало о повышении резистентности мембран к воздействию  $H_2O_2$ . По сравнению с интактными

крысами через 60 суток после отмены окислительных нагрузок NO светосумма хемилюминесценции в эритроцитах уменьшилась при применении 20ppm на 37,06% ( $p=0,020$ ), нормализовалась при 50ppm и была больше при 100ppm на 10,60% ( $p=0,043$ ).

Повышение общего уровня прооксидантного баланса на фоне 30-дневного воздействия высоких концентраций NO подтвердили данные определения МДА, который в плазме увеличился при использовании 50ppm – на 35,18% ( $p=0,026$ ), 100ppm – на 52,32% ( $p=0,018$ ) (рис. 54), в эритроцитах возрос при 50ppm на 9,87% ( $p=0,036$ ), 100ppm – на 15,39% ( $p=0,031$ ) и статистически значимо не изменился в плазме и эритроцитах при применении 20ppm NO по сравнению с интактными крысами (рис. 54).

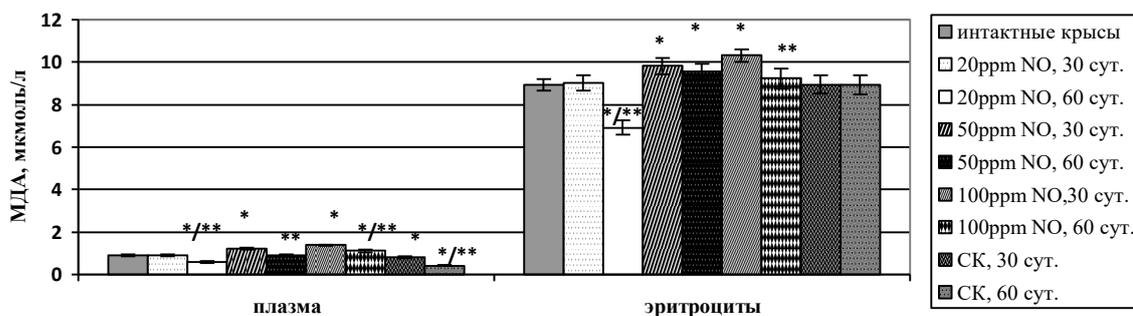


Рис. 54. Концентрация малонового диальдегида в крови крыс при хроническом воздействии АФК и АФА

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ( $p<0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 30 сутками ( $p<0,05$ ).

Через 60 суток наблюдалось снижение концентрации МДА при использовании 20ppm, 50ppm, 100ppm NO в плазме на 35,42% ( $p=0,030$ ), 26,60% ( $p=0,027$ ), 19,03% ( $p=0,038$ ) соответственно по сравнению с параметрами крыс, ингалировавшихся NO соответствующих концентраций 30 суток. Инициаторы ПОЛ (пероксинитрит, гидроксильный радикал, СК), возникающие под влиянием NO, могут активировать СРО и явиться одним из механизмов повреждающего действия NO на биологические мембраны [181; 365].

Ингаляции NO на протяжении 30 суток в концентрации 20ppm привели к повышению концентрации МДА – в цитозоле печени и почек на 21,60%

( $p=0,034$ ), 6,69% ( $p=0,038$ ) по сравнению с показателями интактных крыс. Спустя 60 суток после ингаляций 20ppm NO по сравнению с показателями крыс, получивших 30-дневный курс ингаляций NO, концентрация ТБК-активных продуктов уменьшилась в цитозоле печени (33,18% ( $p=0,034$ )). Через 60 суток после ингаляций 20ppm NO содержание МДА в гомогенате печени, почек, митохондриях почек нормализовалось (табл. 73).

Таблица 73

Концентрация малонового диальдегида в органах крыс  
при хроническом воздействии АФК и АФА

Орган	Субклеточная фракция	Условия эксперимента	МДА, мкмоль/л		
Печень	гомогенат	интактные крысы	9,191±0,115		
		20 ppm NO	30 суток	9,175±0,358	
			60 суток	8,653±0,246	
		50 ppm NO	30 суток	12,126±1,408*	
			60 суток	8,466±0,319*/**	
		100 ppm NO	30 суток	14,962±2,027*	
			60 суток	10,132±0,158*/**	
		СК	30 суток	5,740±0,349*	
			60 суток	7,987±0,406*/**	
		цитоплазматическая фракция	интактные крысы	5,675±0,064	
			20 ppm NO	30 суток	6,901±0,123*
				60 суток	4,611±0,057*/**
	50 ppm NO		30 суток	6,168±0,328*	
			60 суток	5,943±0,265	
	100 ppm NO		30 суток	8,115±0,370*	
			60 суток	6,065±0,248**	
	СК		30 суток	4,483±0,099*	
			60 суток	5,632±0,116**	
	митохондриальная фракция		интактные крысы	3,579±0,027	
			20 ppm NO	30 суток	3,461±0,030
				60 суток	3,333±0,042*
50 ppm NO		30 суток	4,105±0,036*		
		60 суток	3,638±0,054**		
100 ppm NO		30 суток	5,384±0,047*		
		60 суток	4,238±0,033*/**		
СК		30 суток	2,207±0,029*		
		60 суток	3,602±0,025**		
почки		гомогенат	интактные крысы	8,371±0,065	
			20 ppm NO	30 суток	8,542±0,084
				60 суток	8,298±0,101
	50 ppm NO		30 суток	10,353±1,022*	
			60 суток	7,986±0,056*/**	
	100 ppm NO		30 суток	15,899±2,135*	
			60 суток	9,174±0,120*/**	
	СК		30 суток	7,012±0,059*	
			60 суток	8,295±0,124**	
	цитоплазматическая фракция		интактные крысы	4,034±0,031	

		20 ppm NO	30 суток	4,304±0,043*	
			60 суток	4,041±0,027**	
		50 ppm NO	30 суток	5,023±0,034*	
			60 суток	4,311±0,026*/**	
		100 ppm NO	30 суток	7,791±0,109*	
			60 суток	6,063±0,087*/**	
		СК	30 суток	2,785±0,015*	
			60 суток	3,999±0,088**	
	митохондриальная фракция	интактные крысы			3,784±0,027
		20 ppm NO	30 суток	3,127±0,036*	
			60 суток	2,025±0,017*/**	
		50 ppm NO	30 суток	4,406±0,032*	
			60 суток	3,931±0,016**	
		100 ppm NO	30 суток	4,349±0,025*	
60 суток			3,122±0,031*/**		
СК		30 суток	2,053±0,018*		
	60 суток	3,776±0,027**			
сердце	гомогенат	интактные крысы		6,921±0,068	
		20 ppm NO	30 суток	7,672±0,134*	
			60 суток	6,815±0,202**	
		50 ppm NO	30 суток	11,047±1,150*	
			60 суток	9,925±0,309*/**	
		100 ppm NO	30 суток	13,311±1,574*	
			60 суток	12,409±1,068*	
		СК	30 суток	7,843±0,502*	
			60 суток	6,872±0,311**	
		цитоплазматическая фракция	интактные крысы		
	20 ppm NO		30 суток	5,246±0,083*	
			60 суток	4,538±0,046**	
	50 ppm NO		30 суток	10,774±1,152*	
			60 суток	6,831±0,337*/**	
	100 ppm NO		30 суток	12,228±2,004*	
			60 суток	11,298±1,253*	
	СК		30 суток	5,868±0,071*	
			60 суток	4,577±0,046**	
	митохондриальная фракция		интактные крысы		
		20 ppm NO	30 суток	2,691±0,023*	
			60 суток	2,243±0,016**	
		50 ppm NO	30 суток	3,925±0,032*	
			60 суток	1,794±0,011*/**	
		100 ppm NO	30 суток	3,805±0,040*	
60 суток			2,738±0,025*/**		
СК		30 суток	2,964±0,037*		
	60 суток	1,573±0,015*/**			
легкие	гомогенат	интактные крысы		4,890±0,208	
		20 ppm NO	30 суток	5,203±0,049*	
			60 суток	4,875±0,112**	
		50 ppm NO	30 суток	6,743±0,205*	
			60 суток	5,177±0,093**	
		100 ppm NO	30 суток	14,590±2,017*	
			60 суток	13,708±2,009*	
		СК	30 суток	5,945±0,316*	
			60 суток	4,332±0,058*/**	

	цитоплазматическая фракция	интактные крысы		3,229±0,209
		20 ppm NO	30 суток	3,985±0,044*
			60 суток	3,231±0,027**
		50 ppm NO	30 суток	5,604±0,069*
			60 суток	4,289±0,132*/**
		100 ppm NO	30 суток	11,338±1,150*
			60 суток	7,961±0,842*/**
		СК	30 суток	4,405±0,063*
			60 суток	3,197±0,043**
		митохондриальная фракция	интактные крысы	
	20 ppm NO		30 суток	1,845±0,030
			60 суток	1,654±0,024**
	50 ppm NO		30 суток	3,656±0,095*
			60 суток	1,875±0,022**
100 ppm NO	30 суток		3,762±0,050*	
	60 суток		2,979±0,036*/**	
СК	30 суток		1,894±0,072	
	60 суток		1,385±0,014*/**	

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 30 сутками ( $p < 0,05$ ).

После 30 дней воздействия 20ppm NO по сравнению с показателями интактных крыс отмечен рост концентрации МДА в гомогенате, цитозоле и митохондриях сердца на 10,85% ( $p=0,037$ ), 13,45% ( $p=0,034$ ), 21,71% ( $p=0,026$ ) соответственно. Через 60 суток после воздействия 20ppm NO содержание МДА нормализовалось в субклеточных фракциях сердца. 30-дневное воздействие 20ppm NO привело к повышению концентрации МДА в гомогенате и цитозоле легких на 6,41% ( $p=0,039$ ), 23,41% ( $p=0,035$ ) по сравнению с показателями интактных крыс. Через 60 суток после ингаляций 20ppm NO в гомогенате, цитозоле и митохондриях легких содержание МДА нормализовалось (табл. 73).

Использование 50ppm NO на протяжении 30 суток по сравнению с показателями интактных крыс привело к повышению СРО, уровень МДА возрос в гомогенате, цитозоле и митохондриях органов. Через 60 суток после ингаляций 50ppm NO по сравнению с 30-дневным курсом ингаляций содержание МДА уменьшилось в субклеточных фракциях почек, сердца, легких, концентрация ТБК-активных продуктов снизилась в гомогенате и митохондриях печени на 30,18% ( $p=0,032$ ), 11,38% ( $p=0,040$ ) соответственно.

Следовательно, ингаляции NO в концентрации 50ppm на протяжении 30 суток активировали СРО в субклеточных фракциях печени, почек, сердца

и легких. В восстановительный период после отмены ингаляций 50ppm NO (60 суток) концентрация МДА нормализовалась в цитозоле печени, митохондриях почек, гомогенате и митохондриях легких.

Ингаляции NO на протяжении 30 суток в концентрации 100ppm по сравнению с показателями интактных крыс в субклеточных фракциях печени, почек, сердца, легких привели к повышению концентрации МДА. Спустя 60 суток после отмены ингаляций 100ppm NO концентрация МДА была больше в гомогенате и митохондриях печени, гомогенате, цитозоле, митохондриях сердца, легких по сравнению с показателями интактных животных (табл. 73). Можно заключить, ингаляции NO в концентрации 100ppm на протяжении 30 суток обладали сильным прооксидантным действием с сохранением эффекта в восстановительный период после отмены ингаляций (60 суток) в печени, почках и сердца.

Исследование АОС показало, что длительное воздействие NO (30 суток) в концентрации 20ppm и 50ppm привело к росту ОАА плазмы крови на 11,62% ( $p=0,043$ ) и 13,28% ( $p=0,039$ ), и снижению ОАА при использовании 100ppm NO на 18,4% ( $p=0,035$ ) по сравнению с показателем интактных животных (табл. 74). Через 60 суток после отмены ингаляций NO в плазме крови tg 2 $\alpha$  нормализовался после применения 50ppm и 100ppm NO, при использовании 20ppm NO ОАА была повышена на 9,13% ( $p=0,042$ ) по сравнению с показателем интактных крыс.

Известно, что при низких концентрациях NO ведет себя как антиоксидант, так как является отрицательным модулятором НАДФН-оксидазы, продуцирующей одну из АФК –  $H_2O_2$ , а также может реагировать с радикалами органических соединений, обрывая цепные реакции ПОЛ [757].

Исследование СОД, каталазы в эритроцитах выявило повышение их удельной активности через 30 суток после воздействия 20ppm и NO на 60,39% ( $p=0,028$ ), 46,51% ( $p=0,034$ ), при 50 ppm – на 82,08% ( $p=0,014$ ), 81,94% ( $p=0,013$ ) соответственно, снижение удельной активности каталазы в 2,4 раза ( $p<0,001$ ) после воздействия 100ppm NO по сравнению с показателями

интактных животных. В восстановительном периоде (60 суток) после ингаляций NO удельная активность СОД, каталазы в эритроцитах снизилась при 20ppm на 24,05% ( $p=0,036$ ), 21,75% ( $p=0,034$ ) и повысилась при 100ppm – на 28,70% ( $p=0,025$ ), в 2,7 раза ( $p<0,001$ ) по сравнению с показателями крыс, подвергнутых воздействию NO на протяжении 30 суток. По сравнению с показателем интактных крыс через 60 суток после ингаляций 20ppm, 50ppm, 100ppm NO удельная активность СОД, каталазы была повышена.

NO обратимо связывается с гемовым железом оксигемоглобина, гуанилатциклазы, циклооксигеназы, каталазы, липоксигеназ, NOS, цитохрома P-450 и пероксидаз, цитохромов ЭТЦ митохондрий. Вследствие связывания NO с  $Fe^{2+}$  активность железосодержащих ферментов увеличивается [227]. Это создает условия для обрыва процессов ПОЛ.

После длительного (30 суток) ингаляционно-наружного воздействия NO в концентрации 20ppm выявлено повышение активности ГР и Гл-6-фДГ в эритроцитах на 27,56% ( $p=0,022$ ), 43,86% ( $p=0,035$ ) по сравнению с показателями интактных животных, через 60 суток активность ГР и Гл-6-фДГ нормализовалась. 30-дневное применение высоких концентраций NO (50ppm, 100ppm) привело к снижению удельной активности ГР и Гл-6-фДГ в эритроцитах по сравнению с показателями интактных крыс (табл. 74). В восстановительном периоде (60 суток) после ингаляций 50ppm NO активность ГР и Гл-6-фДГ в эритроцитах нормализовалась, при 100ppm NO активность ГР нормализовалась, активность Гл-6-фДГ увеличилась на 20,83% ( $p=0,036$ ) по сравнению с показателями интактных крыс.

Повышение ОАА, активности СОД, каталазы, ГР и Гл-6-фДГ при воздействии 20 ppm и NO на протяжении 30 суток свидетельствовало об увеличении антиоксидантных ресурсов крови. Рост удельной активности СОД и каталазы в восстановительный период (60 суток) после отмены ингаляций NO во всех исследуемых концентрациях (20ppm, 50ppm, 100ppm) представляло адаптивное изменение в ответ на хроническое действие NO.

**Показатели антиоксидантной системы защиты крови у крыс  
при хроническом воздействии АФК и АФА**

Условия эксперимента		tg2α, усл.ед.	СОД, %инг/мин×мг белка	Каталаза, мкмольН <sub>2</sub> О <sub>2</sub> / мин×мг белка	ГР, нмоль НАДФН/мин× мг белка	Гл-6-фДГ, нмоль НАДФН/мин× мг белка
интактные крысы		0,723±0,012	1037,762±21,351	39,512±0,903	95,833±2,324	40,571±0,464
20 ppm NO	30 суток	0,807±0,023 *	1664,425±24,136 *	57,887±2,130 *	122,247±4,011 *	58,364±1,527 *
	60 суток	0,789±0,010 *	1264,157±18,657 */**	45,299±1,584 */**	96,003±3,123 **	40,622±1,120 **
50 ppm NO	30 суток	0,819±0,014 *	1889,531±20,035 *	71,887±3,010 *	63,360±1,352 *	32,197±2,005 *
	60 суток	0,736±0,020 **	1631,833±23,416 */**	64,796±4,003 *	95,724±2,016 **	39,864±2,014 **
100 ppm NO	30 суток	0,590±0,009 *	895,293±14,282	16,633±1,206 *	71,003±1,150 *	28,537±0,968 *
	60 суток	0,717±0,011 **	1152,262±10,637 */**	45,397±2,317 */**	102,144±3,042 **	49,021±2,003 */**
СК	30 суток	0,633±0,008 *	1252,973±15,024 *	51,036±2,011 *	122,895±3,995 *	95,717±2,513 *
	60 суток	0,725±0,019 **	1138,684±17,963 */**	44,827±3,007	118,763±4,251 *	55,124±1,427 */**

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами (p<0,05); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 30 сутками (p<0,05).

Показано, что 30-дневное ингаляционно-наружное воздействие NO в концентрации 20ppm привело к росту ОАА, удельной активности СОД, каталазы, ГР, Гл-6-фДГ по сравнению с показателями интактных животных в гомогенате, цитозоле, митохондриях печени, почек, сердца, легких (табл. 75).

Длительное (30 суток) воздействие 50ppm иNO привело к разнонаправленному изменению ОАА, активности ферментов АОС в субклеточных фракциях печени, почек, сердца, легких по сравнению с показателями интактных животных. При этом для печени было характерно увеличение ОАА в цитозоле (на 39,49% (p=0,030)), митохондриях (на 28,59% (p=0,036)), активности СОД – в гомогенате, цитозоле, митохондриях, каталазы – в цитозоле, митохондриях, снижение активности ГР в митохондриях (на 26,40% (p=0,031)) и Гл-6-фДГ – в гомогенате (на 12,32% (p=0,040)), цитозоле (на 31,72% (p=0,024)), митохондриях (на 25,27% (p=0,038)), для почек был отмечен рост ОАА, активности СОД в гомогенате, цитозоле, митохондриях, активности каталазы – в цитозоле (на 68,15% (p=0,031)), гомогенате (на 19,43% (p=0,033)), уменьшение активности ГР и Гл-6-фДГ в гомогенате, цитозоле, митохондриях, для сердца наблюдалось

повышение ОАА, активности СОД в гомогенате, цитозоле, митохондриях, активности каталазы – в цитозоле (на 35,67% ( $p=0,032$ )), митохондриях (в 2,5 раза ( $p<0,001$ )), снижение активности ГР и Гл-6-фДГ в митохондриях, для легких отмечалось повышение ОАА, активности СОД, каталазы в гомогенате, цитозоле, митохондриях, уменьшение активности ГР в гомогенате (на 23,95% ( $p=0,034$ )), цитозоле (на 31,70% ( $p=0,030$ )), активности Гл-6-фДГ – в гомогенате (на 27,23% ( $p=0,035$ )), цитозоле (на 33,76% ( $p=0,029$ )), митохондриях (на 34,28% ( $p=0,031$ )) (табл. 75).

30-дневное применение 100ppm NO также привело к разнонаправленному изменению показателей АОС в субклеточных фракциях органов по сравнению с показателями интактных животных: в печени – к росту ОАА, СОД в цитозоле, митохондриях, уменьшению активности СОД, каталазы, ГР, Гл-6-фДГ в гомогенате; в почках – к повышению ОАА в гомогенате, цитозоле, уменьшению ОАА в митохондриях, активности СОД, ГР, Гл-6-фДГ в гомогенате, цитозоле, митохондриях, активности каталазы в гомогенате, цитозоле; в сердце – к увеличению ОАА в гомогенате, цитозоле, митохондриях, уменьшению активности СОД в цитозоле, митохондриях, активности каталазы в гомогенате, ГР, Гл-6-фДГ в гомогенате, цитозоле, митохондриях; в легких – к росту ОАА в гомогенате, цитозоле, митохондриях, уменьшению СОД, ГР, Гл-6-фДГ в гомогенате, цитозоле, митохондриях, активности каталазы в цитозоле, митохондриях (табл. 75).

Таблица 75

Общая антиоксидантная активность и удельная активность антиоксидантных ферментов в субклеточных фракциях органов крыс при хроническом воздействии АФК и АФА

Орган	Субклеточная фракция	Условия эксперимента	tg2а, усл.ед.	СОД, %инг./мин× мг белка	Каталаза, Мкмоль H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /мин× мг белка	ГР, нмоль НАДФН/мин× мг белка	Гл-6-фДГ, нмоль НАДФН/мин× мг белка	
Печень	гомогенат	Интактные крысы	0,858 ±0,012	1744,894 ±15,058	43,864 ±1,213	62,810 ±2,524	417,190 ±9,213	
		20 ppm NO	30 суток	0,956 ±0,020*	1929,793 ±20,745*	57,594 ±2,436*	80,904 ±1,867*	599,302 ±11,104*
		60 суток	0,897 ±0,010**/**	1821,703 ±23,007**/**	47,870 ±1,562**	75,022 ±3,005*	423,705 ±14,212**	
		50 ppm	30 суток	0,855 ±0,008	1822,290 ±17,136*	49,315 ±3,044	58,458 ±2,540	365,784 ±7,796*

		NO	60 суток	0,847 ±0,011	1789,787 ±15,094*	47,010 ±1,907	63,013 ±2,065	388,269 ±10,845*	
		100 ppm NO	30 суток	0,849 ±0,007	1474,783 ±12,559*	31,937 ±2,148*	40,375 ±0,948*	275,044 ±16,001*	
			60 суток	0,908 ±0,015*/**	1589,673 ±24,371*/**	35,113 ±1,345*	52,463 ±2,390*/**	322,675 ±1,469*/**	
		СК	30 суток	0,974 ±0,013*	2611,290 ±33,021*	73,843 ±2,527*	119,230 ±5,016*	751,015 ±11,238*	
			60 суток	0,855 ±0,020**	1956,775 ±14,572*/**	67,554 ±1,581*/**	93,564 ±3,023*/**	622,481 ±13,573*/**	
	цитоплазм атическая фракция	Интактные крысы		0,699 ±0,006	1701,040 ±24,498	40,555 ±1,334	61,451 ±3,016	245,888 ±6,105	
		20 ppm NO	30 суток	0,946 ±0,016*	1794,297 ±16,386*	60,308 ±2,275*	85,031 ±4,005*	487,915 ±11,342*	
			60 суток	0,773 ±0,010*/**	1732,335 ±14,125**	41,500 ±0,646**	70,112 ±2,324*/**	266,893 ±4,751*/**	
		50 ppm NO	30 суток	0,975 ±0,012*	2172,043 ±30,443*	45,912 ±0,854*	55,543 ±1,627	167,895 ±9,023*	
			60 суток	0,932 ±0,011*/**	1775,897 ±12,902*/**	43,033 ±0,892	62,003 ±0,563**	243,882 ±5,254**	
		100 ppm NO	30 суток	0,803 ±0,010*	1766,987 ±16,335*	43,463 ±1,010	62,891 ±1,115	253,751 ±4,617	
			60 суток	0,827 ±0,012*	2117,933 ±26,124*/**	46,193 ±0,728*	69,874 ±2,311**	262,190 ±7,384	
		СК	30 суток	1,159 ±0,020*	3272,277 ±20,659*	96,352 ±2,144*	268,230 ±14,157*	540,790 ±12,253*	
			60 суток	0,927 ±0,015*/**	1982,660 ±12,826*/**	58,848 ±2,306*/**	83,011 ±1,825*/**	304,128 ±10,056*/**	
		митохонд риальная фракция	Интактные крысы		0,668 ±0,007	1577,134 ±28,831	19,025 ±1,011	9,554 ±0,554	177,235 ±3,994
			20 ppm NO	30 суток	0,950 ±0,014*	1939,807 ±25,034*	40,198 ±2,203*	17,885 ±0,739*	295,703 ±10,026*
				60 суток	0,758 ±0,010*/**	1647,530 ±18,342*/**	27,140 ±0,552*/**	12,754 ±0,627*/**	193,029 ±6,351*/**
			50 ppm NO	30 суток	0,859 ±0,012*	1937,030 ±12,756*	53,485 ±1,096*	7,032 ±0,241*	132,451 ±4,126*
				60 суток	0,854 ±0,009*	1870,107 ±15,390*/**	49,317 ±1,210*/**	9,567 ±0,235**	178,006 ±2,567**
	100 ppm NO		30 суток	0,781 ±0,008*	1649,963 ±13,617*	20,486 ±0,523	9,112 ±0,384	179,021 ±2,483	
			60 суток	0,859 ±0,013*/**	2121,647 ±19,568*/**	24,033 ±0,671*/**	14,232 ±0,415*/**	185,645 ±4,318	
	СК		30 суток	1,145 ±0,032*	3056,150 ±24,002*	53,437 ±1,205*	41,370 ±1,226*	470,770 ±21,252*	
			60 суток	0,945 ±0,015*/**	2186,093 ±17,155*/**	46,520 ±1,380*/**	23,589 ±0,647*/**	264,382 ±10,175*/**	
Почки	гомогенат		Интактные крысы		0,598 ±0,010	1342,058 ±40,356	29,783 ±2,042	74,704 ±3,006	545,675 ±8,093
		20 ppm NO	30 суток	0,682 ±0,011*	1822,140 ±14,861*	38,536 ±1,617*	84,665 ±2,529*	637,825 ±12,311*	
			60 суток	0,667 ±0,008*	1403,802 ±18,394**	30,725 ±1,584**	75,093 ±4,362**	550,472 ±7,358**	
		50 ppm NO	30 суток	0,903 ±0,013*	2573,250 ±21,042*	35,570 ±1,006*	64,391 ±3,240*	487,658 ±10,124*	
			60 суток	0,659 ±0,007*/**	1533,351 ±24,503*/**	32,292 ±1,853	74,681 ±2,451**	539,972 ±9,145**	
		100 ppm NO	30 суток	0,687 ±0,012*	1017,497 ±14,273*	17,476 ±0,895*	58,093 ±1,687*	412,306 ±11,022*	
			60 суток	0,821 ±0,008*/**	1922,350 ±15,896*/**	40,269 ±0,754*/**	70,426 ±2,538**	465,539 ±14,280*/**	
		СК	30 суток	0,950 ±0,015*	2607,213 ±23,407*	59,190 ±2,037*	133,818 ±7,256*	721,115 ±16,372*	

		60 суток	0,805 ±0,010*/**	1405,755 ±10,668**	68,560 ±3,146*/**	91,032 ±5,017*/**	578,904 ±7,653*/**		
цитоплазм атическая фракция	Интактные крысы		0,306 ±0,008	1014,833 ±12,538	29,638 ±1,017	45,213 ±1,031	241,975 ±6,607		
		20 ppm NO	30 суток	0,666 ±0,014*	1953,970 ±13,742*	39,113 ±2,006*	57,806 ±2,374*	301,998 ±8,946*	
			60 суток	0,504 ±0,011*/**	1148,226 ±9,875*/**	30,992 ±1,548**	49,691 ±2,519**	250,361 ±5,283**	
	50 ppm NO	30 суток	0,781 ±0,010*	1527,247 ±13,628*	49,836 ±2,123*	40,128 ±1,713*	197,754 ±4,026*		
		60 суток	0,531 ±0,011*/**	1140,217 ±10,037*/**	34,434 ±1,215*/**	45,197 ±2,034	243,002 ±9,055**		
	100 ppm NO	30 суток	0,403 ±0,009*	897,110 ±9,726*	22,727 ±2,004*	32,643 ±1,256*	176,586 ±5,342*		
		60 суток	0,412 ±0,010*	1310,483 ±15,235*/**	50,308 ±3,406*/**	42,904 ±1,859**	201,347 ±12,061*		
	СК	30 суток	0,732 ±0,012*	3127,217 ±26,346*	54,185 ±2,733*	78,085 ±3,462*	369,574 ±13,684*		
		60 суток	0,475 ±0,007*/**	1330,415 ±14,002*/**	45,305 ±1,517*/**	56,123 ±2,470*/**	287,432 ±10,153*/**		
	митохонд риальная фракция	Интактные крысы		0,436 ±0,013	932,174 ±30,021	24,015 ±2,004	37,072 ±2,004	345,672 ±9,038	
			20 ppm NO	30 суток	0,677 ±0,011*	1854,332 ±21,350*	36,744 ±1,863*	52,583 ±1,476*	417,382 ±12,150*
				60 суток	0,588 ±0,013*/**	945,600 ±13,243**	26,914 ±0,952**	43,061 ±2,003*/**	348,009 ±5,207**
50 ppm NO		30 суток	0,881 ±0,009*	1801,477 ±16,285*	27,249 ±1,135	31,332 ±1,250*	266,853 ±10,411*		
		60 суток	0,712 ±0,010*/**	1565,229 ±20,329*/**	25,862 ±1,304	38,011 ±1,368**	341,885 ±7,364**		
100 ppm NO		30 суток	0,357 ±0,008*	773,038 ±10,056*	26,785 ±0,845	29,433 ±1,257*	254,702 ±8,059*		
		60 суток	0,577 ±0,011*/**	1538,756 ±21,093*/**	38,939 ±1,576*/**	39,052 ±2,419**	281,024 ±11,346*		
СК		30 суток	0,821 ±0,014*	3255,580 ±30,547*	53,267 ±2,003*	85,050 ±3,627*	496,573 ±13,420*		
		60 суток	0,744 ±0,012*/**	1558,240 ±16,395*/**	38,270 ±1,155*/**	47,136 ±2,528*/**	385,296 ±7,153*/**		
Сердце		гомогенат	Интактные крысы		0,329 ±0,006	1627,293 ±43,658	22,612 ±1,231	55,078 ±3,301	344,465 ±7,012
				20 ppm NO	30 суток	0,427 ±0,012*	2376,962 ±28,345*	30,212 ±2,364*	72,048 ±2,315*
					60 суток	0,414 ±0,010*	1722,588 ±20,326*/**	23,667 ±1,528**	58,642 ±1,506**
	50 ppm NO		30 суток	0,578 ±0,013*	1986,886 ±15,743*	26,287 ±2,003	53,885 ±2,423	330,013 ±6,751	
			60 суток	0,407 ±0,008*/**	1770,878 ±22,654*/**	23,009 ±1,425	54,997 ±3,008	326,157 ±10,046	
	100 ppm NO		30 суток	0,363 ±0,011*	1599,151 ±27,634	11,818 ±0,792*	42,573 ±1,169*	317,085 ±9,325*	
			60 суток	0,405 ±0,007*/**	1631,539 ±17,082	12,859 ±0,956*	50,962 ±2,051**	309,224 ±7,518*	
	СК		30 суток	0,433 ±0,010*	2500,000 ±31,462*	46,665 ±2,304*	75,327 ±4,115*	427,189 ±15,273*	
			60 суток	0,335 ±0,009**	1839,655 ±25,174*/**	38,810 ±1,753*/**	69,988 ±2,534*	345,280 ±10,169**	
	цитоплазм атическая фракция		Интактные крысы		0,294 ±0,006	1345,507 ±33,754	15,261 ±1,120	42,825 ±1,996	234,675 ±4,557
				20 ppm NO	30 суток	0,461 ±0,010*	2011,275 ±24,038*	26,153 ±2,354*	58,902 ±2,274*
				60 суток	0,405 ±0,007*/**	1569,630 ±16,285*/**	16,032 ±1,271**	45,153 ±2,468**	246,521 ±5,681**

		50 ppm NO	30 суток	0,361 ±0,011*	1957,070 ±23,164*	20,705 ±1,364*	45,671 ±2,039	225,907 ±4,362	
			60 суток	0,331 ±0,013*	1432,410 ±31,560*/**	19,708 ±1,252*	43,001 ±1,756	231,008 ±5,104	
		100 ppm NO	30 суток	0,347 ±0,008*	1270,664 ±15,783*	12,480 ±0,529	28,572 ±0,637*	199,658 ±6,327*	
			60 суток	0,358 ±0,014*	1400,032 ±12,905**	24,127 ±1,348*/**	38,964 ±1,821**	202,114 ±6,109*	
		СК	30 суток	0,363 ±0,013*	3235,295 ±29,563*	75,215 ±3,693*	71,495 ±3,027*	332,800 ±12,045*	
			60 суток	0,302 ±0,009**	1806,250 ±17,439*/**	53,380 ±2,514*/**	63,819 ±2,005*/**	254,075 ±10,226**	
		митохондриальная фракция	Интактные крысы		0,224 ±0,021	1574,752 ±27,859	11,174 ±0,907	26,613 ±1,018	195,283 ±4,896
			20 ppm NO	30 суток	0,821 ±0,013*	1729,447 ±21,653*	16,645 ±1,203*	35,669 ±2,006*	374,299 ±10,236*
				60 суток	0,505 ±0,008*/**	1715,869 ±14,732*	15,013 ±0,869*	29,781 ±1,154**	207,651 ±8,154**
			50 ppm NO	30 суток	0,421 ±0,011*	1882,315 ±25,010*	27,380 ±1,145*	22,901 ±0,967*	154,324 ±6,047*
				60 суток	0,390 ±0,014*	1669,298 ±21,147*/**	17,324 ±0,875*/**	26,599 ±2,003	167,289 ±4,246*
			100 ppm NO	30 суток	0,332 ±0,009*	1410,536 ±13,678*	9,048 ±0,753	17,573 ±0,586*	136,539 ±2,387*
	60 суток			0,401 ±0,010*/**	1892,211 ±27,125*/**	11,562 ±0,478**	25,901 ±2,340**	144,785 ±3,125*	
	СК	30 суток	0,703 ±0,015*	3666,665 ±34,283*	38,800 ±2,654*	46,967 ±2,018*	409,860 ±8,634*		
		60 суток	0,301 ±0,008*/**	2173,910 ±24,185*/**	21,514 ±1,231*/**	37,014 ±2,365*/**	213,558 ±7,001*/**		
	легкие	гомогенат	Интактные крысы		0,286 ±0,016	875,012 ±12,786	23,917 ±1,046	49,230 ±2,012	140,655 ±5,025
			20 ppm NO	30 суток	0,571 ±0,005*	1178,500 ±15,264*	26,528 ±0,865	62,741 ±2,140*	268,295 ±7,371*
				60 суток	0,319 ±0,007*/**	1069,510 ±22,013*/**	24,776 ±1,328	55,389 ±1,275*/**	143,832 ±3,549**
			50 ppm NO	30 суток	0,396 ±0,004*	2258,127 ±31,025*	36,420 ±2,050*	37,441 ±1,186*	102,356 ±2,412*
60 суток				0,291 ±0,011**	1744,818 ±15,341*/**	23,902 ±1,564**	49,197 ±1,528**	135,678 ±1,493**	
100 ppm NO			30 суток	0,327 ±0,013*	655,576 ±10,012*	21,602 ±0,347	26,904 ±1,301*	97,854 ±5,207*	
			60 суток	0,439 ±0,015*/**	1021,552 ±15,673*/**	22,835 ±2,002	37,589 ±2,007*/**	114,322 ±4,501*/**	
СК			30 суток	0,392 ±0,010*	3157,900 ±34,218*	68,533 ±3,168*	73,915 ±3,249*	351,600 ±11,027*	
			60 суток	0,336 ±0,014*/**	1262,625 ±17,368*/**	26,585 ±1,130**	64,825 ±2,763*/**	157,011 ±3,390*/**	
цитоплазматическая фракция			Интактные крысы		0,219 ±0,015	739,970 ±19,279	18,907 ±0,996	28,315 ±1,001	102,380 ±3,121
			20 ppm NO	30 суток	0,516 ±0,015*	1686,910 ±21,375*	23,396 ±1,624*	37,008 ±1,615*	196,438 ±4,050*
				60 суток	0,233 ±0,007**	1170,915 ±14,238*/**	19,227 ±1,003	29,124 ±0,986**	110,025 ±4,113**
		50 ppm NO	30 суток	0,391 ±0,011*	2826,252 ±25,174*	25,694 ±2,010*	19,339 ±0,752*	67,821 ±2,570*	
			60 суток	0,294 ±0,007*/**	1448,322 ±15,607*/**	20,562 ±0,872**	27,226 ±2,001**	98,754 ±3,022**	
		100 ppm NO	30 суток	0,342 ±0,013*	525,314 ±11,516*	13,647 ±0,739*	17,806 ±0,903*	59,003 ±1,458*	
			60 суток	0,375 ±0,014*	661,276 ±10,953*/**	18,885 ±1,051**	24,375 ±1,282**	72,434 ±3,395*/**	

митохондриальная фракция	СК	30 суток	0,390 ±0,009*	2517,160 ±16,938*	56,000 ±3,144*	42,030 ±2,154*	305,700 ±8,647*
		60 суток	0,288 ±0,005*/**	1309,681 ±12,041*/**	23,810 ±1,006*/**	35,756 ±2,030*/**	145,578 ±3,002*/**
	Интактные крысы	30 суток	0,221 ±0,016	814,027 ±12,334	16,917 ±0,352	23,133 ±1,204	35,855 ±2,105
		60 суток	0,723 ±0,012*	1692,021 ±20,156*	25,809 ±1,347*	29,875 ±2,060*	74,261 ±1,589*
	20 ppm NO	30 суток	0,324 ±0,007*/**	822,364 ±12,150**	17,122 ±0,608**	25,110 ±1,453	37,002 ±1,365**
		60 суток	0,559 ±0,014*	2331,260 ±29,347*	25,338 ±1,341*	21,103 ±1,672	23,564 ±0,472*
	50 ppm NO	30 суток	0,483 ±0,010*/**	1528,230 ±25,176*/**	20,114 ±0,357*/**	23,144 ±1,563	34,773 ±1,500**
		60 суток	0,311 ±0,006*	691,238 ±10,463*	11,865 ±0,466*	15,842 ±0,315*	19,285 ±0,427*
	100 ppm NO	30 суток	0,415 ±0,009*/**	699,176 ±12,005*	13,949 ±0,237*/**	18,773 ±0,469*/**	22,591 ±1,203*/**
		60 суток	0,381 ±0,010*	2048,580 ±23,427*	51,432 ±1,320*	59,155 ±1,380*	97,581 ±4,030*
	СК	30 суток	0,265 ±0,006*/**	1294,445 ±18,376*/**	24,245 ±0,867*/**	34,028 ±1,247*/**	41,075 ±1,226**
		60 суток					

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 30 сутками ( $p < 0,05$ ).

Спустя 60 суток после ингаляций 20ppm NO в органах часть показателей АОС нормализовалась (для печени: активность СОД в цитозоле, каталазы – в гомогенате, цитозоле, Гл-6-фДГ – в гомогенате; для почек: активность СОД в гомогенате и митохондриях, каталазы, Гл-6-фДГ – в гомогенате, цитозоле, митохондриях, ГР – в гомогенате, цитозоле; для сердца: активность каталазы в гомогенате и цитозоле, активность ГР и Гл-6-фДГ в гомогенате, цитозоле, митохондриях; для легких: ОАА в цитозоле, СОД в митохондриях, каталаза и Гл-6-фДГ в гомогенате, цитозоле, митохондриях, ГР в цитозоле и митохондриях), часть была повышенной. По сравнению с показателями интактных крыс в субклеточных фракциях печени, почек, сердца, легких через 60 суток после применения 50ppm и 100ppm NO лишь часть показателей АОС нормализовалась (табл. 75).

Показано повышение активности АлДГ после применения иNO на протяжении 30 суток в концентрации 20 ppm по сравнению с показателями интактных животных в гомогенате, цитозоле, митохондриях печени на 6,29% ( $p=0,044$ ), 31,89% ( $p=0,034$ ), 47,53% ( $p=0,020$ ), почек – на 23,39% ( $p=0,037$ ), 84,30% ( $p=0,020$ ), 58,41% ( $p=0,023$ ), сердца – в 2,5 раза ( $p < 0,001$ ), на 35,24% ( $p=0,032$ ), 7,31% ( $p=0,042$ ), легких – на 38,48% ( $p=0,027$ ), 37,84%

( $p=0,032$ ), 49,50% ( $p=0,028$ ) соответственно, в эритроцитах – на 32,16% ( $p=0,034$ ). В отдаленные сроки (60 суток) после применения 20ppm NO по сравнению с показателями интактных крыс активность АлДГ осталась повышенной в эритроцитах, нормализовалась в гомогенате, цитозоле, митохондриях печени, почек, в митохондриях сердца (табл. 76).

Таблица 76

Удельная активность альдегиддегидрогеназы в крови и органах здоровых крыс при хроническом воздействии АФК и АФА

Объект исследования		Условия эксперимента		АлДГ, нмоль НАДН/мин×мг белка	
Кровь (эритроциты)	Интактные крысы			22,359±0,947	
	NO (20 ppm)	30 суток		29,550±0,837*	
		60 суток		49,675±1,562**/**	
	NO (50 ppm)	30 суток		15,413±0,639*	
		60 суток		29,550±0,794**/**	
	NO (100 ppm)	30 суток		10,757±0,501*	
		60 суток		30,009±1,016**/**	
	СК	30 суток		33,190±1,175*	
60 суток			57,988±2,326**/**		
Печень	гомогенат	Интактные крысы		73,129±2,535	
		NO (20 ppm)	30 суток	77,731±1,004*	
			60 суток	72,229±2,158**	
		NO (50 ppm)	30 суток	49,622±0,574*	
			60 суток	67,220±1,349**/**	
		NO (100 ppm)	30 суток	43,414±0,626*	
			60 суток	65,311±2,004**/**	
		СК	30 суток	80,936±3,011	
			60 суток	75,538±1,382	
		цитоплазматическая фракция	Интактные крысы		53,446±1,531
			NO (20 ppm)	30 суток	70,489±2,456*
				60 суток	57,755±1,302**
	NO (50 ppm)		30 суток	49,909±0,899*	
			60 суток	54,496±1,354**	
	NO (100 ppm)		30 суток	37,236±0,886*	
			60 суток	51,100±1,120**	
	СК		30 суток	65,515±2,008*	
			60 суток	63,160±1,437*	
	митохондриальная фракция		Интактные крысы		40,241±2,015
			NO (20 ppm)	30 суток	59,367±1,182*
				60 суток	42,414±0,867**
		NO (50 ppm)	30 суток	34,042±0,906*	
			60 суток	40,301±0,572**	
		NO (100 ppm)	30 суток	29,122±0,488*	
60 суток			41,005±1,127**		
СК		30 суток	79,480±2,035*		
		60 суток	40,747±1,051**		
Почки		гомогенат	Интактные крысы		106,546±4,379
			NO (20 ppm)	30 суток	131,462±2,136*
				60 суток	109,305±3,207**
	NO (50 ppm)		30 суток	73,485±2,114*	

			60 суток	110,088±3,630**		
		NO (100 ppm)	30 суток	69,782±1,059*		
			60 суток	106,560±2,487**		
		СК	30 суток	176,965±4,252*		
			60 суток	119,033±3,921*/**		
		цитоплазматическая фракция	Интактные крысы			39,281±2,151
	NO (20 ppm)		30 суток	72,393±2,006*		
			60 суток	45,773±1,078**		
	NO (50 ppm)		30 суток	20,037±0,543*		
			60 суток	39,290±1,114**		
	NO (100 ppm)		30 суток	27,372±0,386*		
			60 суток	40,011±0,595**		
	СК		30 суток	87,465±3,027*		
			60 суток	71,080±1,945*/**		
	митохондриальная фракция		Интактные крысы			38,797±1,354
		NO (20 ppm)	30 суток	61,457±1,304*		
			60 суток	41,133±0,826**		
		NO (50 ppm)	30 суток	23,424±0,731*		
			60 суток	38,814±1,549**		
		NO (100 ppm)	30 суток	14,598±0,470*		
			60 суток	39,003±1,001**		
СК		30 суток	72,925±1,844*			
		60 суток	43,502±0,679*/**			
Сердце		гомогенат	Интактные крысы		25,465±1,348	
	NO (20 ppm)		30 суток	63,314±1,572*		
			60 суток	56,201±1,803*/**		
	NO (50 ppm)		30 суток	16,201±0,315*		
			60 суток	25,471±0,869**		
	NO (100 ppm)		30 суток	17,308±0,407*		
			60 суток	26,011±0,965**		
	СК		30 суток	34,700±1,018*		
			60 суток	33,195±0,347*		
	цитоплазматическая фракция		Интактные крысы			67,981±2,008
			NO (20 ppm)	30 суток	91,940±2,563*	
				60 суток	84,438±3,117*	
		NO (50 ppm)	30 суток	43,037±1,214*		
			60 суток	68,003±3,052**		
		NO (100 ppm)	30 суток	54,322±1,147*		
			60 суток	67,853±2,629**		
		СК	30 суток	82,505±3,027*		
			60 суток	70,250±1,113**		
		митохондриальная фракция	Интактные крысы			162,262±4,381
	NO (20 ppm)		30 суток	174,119±3,225*		
			60 суток	165,633±2,170**		
	NO (50 ppm)		30 суток	132,616±3,123*		
			60 суток	161,487±1,390**		
	NO (100 ppm)		30 суток	136,577±3,005*		
60 суток			164,001±3,914**			
СК	30 суток		196,500±4,168*			
	60 суток		184,890±4,511*/**			
легкие	гомогенат		Интактные крысы		47,670±2,010	
		NO (20 ppm)	30 суток	66,013±1,325*		
			60 суток	62,579±0,968*		
		NO (50 ppm)	30 суток	29,127±0,864*		
			60 суток	47,665±2,133**		

		NO (100 ppm)	30 суток	32,824±1,059*	
			60 суток	48,105±1,167**	
		СК	30 суток	57,391±0,834*	
			60 суток	49,902±1,111**	
	цитоплазматическая фракция	Интактные крысы		47,088±1,975	
		NO (20 ppm)	30 суток	64,908±2,014*	
			60 суток	63,213±2,008*	
		NO (50 ppm)	30 суток	29,101±0,351*	
			60 суток	47,104±1,376**	
		NO (100 ppm)	30 суток	21,847±0,549*	
			60 суток	47,225±2,101**	
		СК	30 суток	71,252±2,136*	
			60 суток	70,015±1,027*	
		митохондриальная фракция	Интактные крысы		65,174±2,053
NO (20 ppm)	30 суток		97,435±3,102*		
	60 суток		83,544±2,116**/**		
NO (50 ppm)	30 суток		34,638±0,875*		
	60 суток		65,182±1,424**		
NO (100 ppm)	30 суток		54,428±1,013*		
	60 суток		66,033±1,224**		
СК	30 суток		103,350±3,218*		
	60 суток		92,305±3,003**/**		

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 30 сутками ( $p < 0,05$ ).

Длительные ингаляции (30 дней) NO в концентрации 50ppm и 100ppm вызвали снижение удельной активности АлДГ крыс по сравнению с показателями интактных крыс в эритроцитах, субклеточных фракциях органов. В восстановительный период (60 суток) после ингаляций 50ppm и 100ppm NO удельная активность АлДГ возросла по сравнению с показателями крыс, получавших и NO 30 суток, в субклеточных фракциях органов, эритроцитах, нормализовавшись после применения 50ppm NO в гомогенате, цитозоле и митохондриях почек, сердца, легких, в цитозоле и митохондриях печени, после ингаляций 100ppm NO – во всех субклеточных фракциях почек, сердца, легких, цитозоле и митохондриях печени (табл. 76).

АлДГ2 является ключевым ферментом, участвующим в цитопротекции сердца, существует обратная корреляция между активностью АлДГ2 и степенью инфаркта. Митохондриальная АлДГ2 участвует в биоактивации нитроглицерина в NO. Кроме того, хроническое воздействие нитратов приводит к ингибированию АлДГ2 и способствует толерантности к нитратам [494]. Показано статистически значимое увеличение удельной активности АДГпр, АДГобр после 30-дневных ингаляций NO в концентрации 20ppm по

сравнению с показателями интактных крыс в гомогенате, цитозоле, митохондриях печени, почек, сердца, легких. Под влиянием 20ppm NO на протяжении 30 дней соотношение АДГпр/АДГобр было в пределах нормы в гомогенате печени, митохондриях почек, гомогенате, цитозоле, митохондриях сердца, легких и снизилось в цитозоле, митохондриях печени, гомогенате, цитозоле почек (табл. 77).

В восстановительный период (60 суток) после отмены ингаляций NO в концентрации 20ppm удельная активность АДГ в прямой и обратной реакциях уменьшились во всех субклеточных фракциях печени, почек, сердца по сравнению с показателями крыс, получавших иNO 30 суток. Через 60 суток после ингаляций 20ppm NO отмечена нормализация активности АДГпр, АДГобр и АДГпр/АДГобр во всех субклеточных фракциях печени, АДГпр – в гомогенате и цитозоле почек, сердца, гомогенате легких, АДГобр – в цитозоле почек, гомогенате легких, АДГпр/АДГобр – в гомогенате и митохондриях почек, сердца, всех субклеточных фракциях легких.

Таблица 77

Удельная активность алкогольдегидрогеназы (нмоль НАДН/мин×  
мг белка) в органах здоровых крыс при хроническом воздействии АФК

Объект исследования		Условия эксперимента	АДГпр	АДГобр	АДГпр/АДГобр		
Печень	гомогенат	Интактные крысы	119,224±4,113	306,444±5,213	0,389±0,004		
		NO (20 ppm)	30 суток	147,564±3,861*	395,684±5,381*	0,372±0,010	
			60 суток	120,548±4,032**	308,115±6,044**	0,391±0,005	
		NO (50 ppm)	30 суток	72,681±2,218*	148,942±3,205*	0,488±0,012*	
			60 суток	115,574±4,035**	298,563±4,837**	0,387±0,007**	
		NO (100 ppm)	30 суток	71,395±1,967*	123,017±2,465*	0,580±0,014*	
			60 суток	78,286±3,004*	140,929±1,964*/**	0,555±0,008*	
		СК	30 суток	135,782±5,122*	379,110±5,237*	0,358±0,006*	
			60 суток	122,981±2,836**	310,258±4,025**	0,396±0,004**	
		цитозоль	Интактные крысы	62,942±2,835	244,053±3,756	0,258±0,003	
			NO (20 ppm)	30 суток	86,619±2,744*	361,194±4,031*	0,239±0,005*
				60 суток	63,022±2,135**	245,993±4,250**	0,256±0,003**
	NO (50 ppm)		30 суток	51,155±1,689*	191,765±3,213*	0,267±0,006	
			60 суток	60,884±1,577**	236,022±3,946**	0,258±0,005	
	NO (100 ppm)		30 суток	44,690±2,034*	153,260±1,153*	0,292±0,006*	
			60 суток	47,050±1,261*	160,938±2,027*/**	0,292±0,004*	
	СК		30 суток	77,788±3,076*	316,024±4,319*	0,246±0,007	
			60 суток	61,854±2,113**	246,365±2,885**	0,251±0,008	
	митохондрии		Интактные крысы	59,391±2,160	133,014±2,318	0,447±0,011	
			NO (20 ppm)	30 суток	69,316±3,045*	186,499±3,002*	0,371±0,010*
				60 суток	60,785±3,127	135,012±1,594**	0,450±0,009**
		NO	30 суток	38,84±1,589*	71,846±2,011*	0,541±0,013*	

		(50 ppm)	60 суток	57,639±2,005**	125,315±4,120**	0,460±0,011**	
		NO (100 ppm)	30 суток	33,835±1,120*	62,915±1,865*	0,538±0,014*	
			60 суток	27,464±0,947*/**	60,889±2,047*	0,451±0,008**	
		СК	30 суток	76,275±2,351*	198,404±2,338*	0,384±0,005*	
			60 суток	62,490±2,212**	140,278±1,592*/**	0,445±0,007**	
Почки	гомоге нат	Интактные крысы		28,175±1,028	129,642±3,221	0,217±0,006	
		NO (20 ppm)	30 суток	47,473±1,446*	268,885±4,234*	0,177±0,003*	
			60 суток	29,903±1,389**	145,146±1,157*/**	0,206±0,005**	
		NO (50 ppm)	30 суток	22,303±0,785*	71,225±0,869*	0,313±0,011*	
			60 суток	30,272±1,512**	141,004±2,455*/**	0,215±0,007**	
		NO (100 ppm)	30 суток	18,564±0,499*	60,273±1,321*	0,308±0,009*	
		60 суток	21,748±0,257*/**	97,324±2,174*/**	0,223±0,010**		
		СК	30 суток	59,335±0,1,942*	312,185±4,637*	0,190±0,007*	
			60 суток	30,140±1,203**	140,470±3,012**	0,215±0,005**	
	цитозоль	Интактные крысы		59,671±2,594	286,729±4,312	0,208±0,005	
		NO (20 ppm)	30 суток	76,374±3,001*	475,862±5,109*	0,161±0,004*	
			60 суток	54,323±1,240**	285,993±4,325**	0,190±0,008*/**	
		NO (50 ppm)	30 суток	32,808±1,036*	95,127±1,620*	0,345±0,012*	
			60 суток	55,486±1,687**	307,403±5,977**	0,180±0,005*/**	
		NO (100 ppm)	30 суток	31,217±1,035*	78,152±2,113*	0,399±0,014*	
			60 суток	43,257±2,142*/**	193,427±2,936*/**	0,223±0,007**	
		СК	30 суток	97,238±3,120*	557,623±6,047*	0,174±0,004*	
				60 суток	60,690±1,546**	293,451±3,202**	0,207±0,002**
		митохондрии	Интактные крысы		28,418±1,321	265,769±4,249	0,107±0,004
	NO (20 ppm)		30 суток	64,600±3,002*	592,839±4,301*	0,109±0,003	
			60 суток	33,065±1,105*/**	304,423±3,156*/**	0,108±0,005	
	NO (50 ppm)		30 суток	17,443±0,879*	108,200±2,007*	0,161±0,006*	
			60 суток	27,954±1,352**	267,738±2,835**	0,104±0,003**	
	NO (100 ppm)		30 суток	15,126±0,120*	59,513±1,120*	0,254±0,013*	
	60 суток		22,150±0,673*/**	180,009±2,224*/**	0,123±0,007*/**		
СК	30 суток		55,610±1,254*	537,831±5,347*	0,103±0,002		
		60 суток	30,012±0,966**	292,310±3,108*/**	0,103±0,003		
Сердце	гомоге нат	Интактные крысы		44,710±2,566	167,371±2,044	0,267±0,004	
		NO (20 ppm)	30 суток	69,345±3,140*	256,899±4,012*	0,269±0,004	
			60 суток	47,012±1,588**	178,772±1,552*/**	0,263±0,005	
		NO (50 ppm)	30 суток	34,915±1,367*	108,530±3,204*	0,322±0,001*	
			60 суток	42,879±2,341**	156,973±2,768*/**	0,273±0,012**	
		NO (100 ppm)	30 суток	20,371±1,253*	61,578±1,954*	0,331±0,009*	
		60 суток	28,365±2,006*/**	93,436±2,063*/**	0,304±0,010*/**		
		СК	30 суток	73,085±3,427*	276,065±3,005*	0,265±0,007	
			60 суток	45,369±2,009**	172,143±1,487**	0,264±0,009	
	цитозоль	Интактные крысы		18,756±0,964	193,773±2,569	0,097±0,003	
		NO (20 ppm)	30 суток	35,576±1,527*	391,811±4,652*	0,091±0,002	
			60 суток	19,904±0,864**	223,772±3,821*/**	0,088±0,001*	
		NO (50 ppm)	30 суток	13,264±0,731*	113,270±3,004*	0,117±0,005*	
			60 суток	17,428±0,885**	186,531±2,637**	0,093±0,004**	
		NO (100 ppm)	30 суток	12,875±0,686*	120,034±1,552*	0,107±0,010	
			60 суток	15,022±0,579*	145,360±4,030*/**	0,103±0,004	
		СК	30 суток	32,935±2,414*	418,013±5,127*	0,079±0,002*	
			60 суток	20,396±2,046**	208,905±4,568*/**	0,097±0,003**	
	митохондрии	Интактные крысы		33,383±1,237	146,651±3,226	0,228±0,011	
		NO (20 ppm)	30 суток	61,186±3,125*	296,748±5,012*	0,206±0,010	
			60 суток	37,584±1,146*/**	169,534±4,047*/**	0,221±0,009	
		NO (50 ppm)	30 суток	21,981±0,998*	84,703±2,305*	0,260±0,013*	
			60 суток	29,939±1,231*/**	136,622±3,560**	0,219±0,008**	

Легкие	гомогенат	NO (100 ppm)	30 суток	23,680±1,040*	81,542±2,048*	0,290±0,014*	
			60 суток	25,627±2,007*	90,527±3,411*/**	0,283±0,012*	
		СК	30 суток	58,937±3,106*	267,829±6,035*	0,220±0,010	
			60 суток	35,565±2,133**	174,175±3,008*/**	0,204±0,009	
		цитозоль	Интактные крысы	30 суток	48,393±1,431	271,385±3,043	0,178±0,004
				60 суток	48,393±1,431	271,385±3,043	0,178±0,004
	NO (20 ppm)		30 суток	69,377±2,012*	417,865±6,107*	0,166±0,012	
			60 суток	49,973±1,365**	277,732±5,213**	0,180±0,015	
	NO (50 ppm)		30 суток	33,367±2,014*	183,074±3,619*	0,182±0,008	
			60 суток	45,957±1,677**	270,694±4,330**	0,170±0,007	
	NO (100 ppm)	30 суток	16,958±1,005*	88,405±2,520*	0,192±0,013		
		60 суток	27,179±2,341*/**	139,503±3,627*/**	0,195±0,007*		
СК	30 суток	73,335±3,025*	426,811±12,014*	0,172±0,011			
	60 суток	50,105±1,568**	280,125±9,634**	0,179±0,010			
митохондрии	Интактные крысы	30 суток	27,264±0,946	770,710±4,305	0,035±0,002		
		60 суток	27,264±0,946	770,710±4,305	0,035±0,002		
	NO (20 ppm)	30 суток	41,629±2,080*	1309,235±16,152*	0,032±0,003		
		60 суток	38,753±1,653*	1238,421±13,207*/**	0,031±0,002		
	NO (50 ppm)	30 суток	23,760±1,524	609,108±10,085*	0,039±0,001		
		60 суток	26,942±2,003	771,021±9,369**	0,035±0,004		
	NO (100 ppm)	30 суток	18,327±0,958*	446,980±11,058*	0,041±0,003		
		60 суток	20,880±1,527*	522,685±12,043*/**	0,040±0,002		
	СК	30 суток	71,250±3,046*	1831,540±25,217*	0,039±0,003		
		60 суток	34,695±1,027*/**	886,500±10,564*/**	0,039±0,002		
	гомогенат	Интактные крысы	30 суток	20,231±0,258	552,588±2,264	0,037±0,010	
			60 суток	20,231±0,258	552,588±2,264	0,037±0,010	
NO (20 ppm)		30 суток	34,221±1,344*	900,092±8,036*	0,038±0,001		
		60 суток	27,944±2,060*/**	754,485±6,542*/**	0,037±0,002		
NO (50 ppm)		30 суток	15,456±1,068*	321,923±5,983*	0,048±0,004		
		60 суток	18,717±1,121	549,786±4,909**	0,034±0,003**		
NO (100 ppm)	30 суток	12,563±0,997*	179,274±5,146*	0,070±0,008*			
	60 суток	16,435±2,133*/**	326,390±6,270*/**	0,050±0,005**			
СК	30 суток	58,905±4,005*	1521,674±16,34*5	0,039±0,003			
	60 суток	23,764±1,542*/**	632,550±3,789*/**	0,037±0,002			

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 30 сутками ( $p < 0,05$ ).

Длительные ингаляции (30 дней) NO в концентрации 50ppm и 100ppm вызвали снижение удельной активности АДГпр, АДГобр по сравнению с показателями интактных крыс в гомогенате, цитозоле, митохондриях органов. АДГпр/АДГобр увеличилось после 30-дневного влияния 50ppm и NO в гомогенате, митохондриях печени, субклеточных фракциях почек, сердца, после воздействия 100ppm – в гомогенате, цитозоле, митохондриях печени, почек, гомогенате сердца, митохондриях сердца, легких (табл. 77).

В восстановительный период (60 суток) после ингаляций 50ppm NO по сравнению с показателями крыс, получавших иNO на протяжении 30 суток удельная активность АДГ в прямой, обратной реакциях возросла во всех субклеточных фракциях печени, почек, сердца, легких, АДГпр/АДГобр уменьшилось в гомогенате (на 20,70% ( $p = 0,032$ )) и митохондриях печени (на

14,97% ( $p=0,033$ )), в гомогенате почек (на 31,31% ( $p=0,028$ )), цитозоле почек (на 47,83% ( $p=0,011$ )), митохондриях почек (на 35,40% ( $p=0,032$ )), в гомогенате сердца (на 15,22% ( $p=0,038$ )), цитозоле сердца (на 20,51% ( $p=0,036$ )), митохондриях сердца (на 15,77% ( $p=0,041$ )), митохондриях легких (на 29,17% ( $p=0,035$ )). Через 60 суток после ингаляций 50ppm NO отмечена нормализация АДГпр, АДГобр и АДГпр/АДГобр в гомогенате, цитозоле, митохондриях печени, легких, активности АДГпр – во всех субклеточных фракциях почек, гомогенате и цитозоле сердца, активности АДГобр – в цитозоле и митохондриях почек, сердца, АДГпр/АДГобр – в гомогенате и митохондриях почек, субклеточных фракциях сердца.

Через 60 суток после ингаляций NO в концентрации 100ppm по сравнению с показателями крыс, получавших и NO 30 суток, соотношение АДГпр/АДГобр уменьшилось в митохондриях печени на 16,17% ( $p=0,040$ ), гомогенате, цитозоле, митохондриях почек – на 27,57% ( $p=0,033$ ), 44,11% ( $p=0,013$ ), в 2,1 раза ( $p<0,001$ ), гомогенате сердца – на 8,16% ( $p=0,043$ ), митохондриях легких – на 28,57% ( $p=0,032$ ), нормализовавшись в митохондриях печени, гомогенате и цитозоле почек, цитозоле сердца, цитозоле и митохондриях легких. По сравнению с показателями интактных крыс через 60 суток после ингаляций 100ppm NO отмечено снижение удельной активности АДГ в прямой и обратной реакциях во всех субклеточных фракциях печени, почек, сердца, легких (табл. 77).

Следует отметить, что хроническое применение NO в концентрации 20ppm, 50ppm и 100ppm на протяжении 30 суток и в восстановительный период после ингаляций (60 суток) не оказало выраженного влияния на каталитические свойства АДГ в легких, АДГпр/АДГобр статистически значимо не отличалось от показателей интактных крыс во всех субклеточных фракциях. Хроническое системное воздействие (30 суток) и NO в концентрации 20ppm по сравнению с показателями интактных крыс в митохондриях печени, почек, сердца и легких вызвало повышение удельной активности АДГ на 26,69% ( $p=0,034$ ), в 2,4 раза ( $p<0,001$ ), на 38,98%

( $p=0,027$ ), 91,69% ( $p<0,001$ ), цитохром *c* оксидазы – на 13,42% ( $p=0,035$ ), 55,38% ( $p=0,017$ ), в 2,4 раза ( $p<0,001$ ), на 43,12% ( $p=0,026$ ) соответственно. В восстановительный период после ингаляций 20ppm NO (60 суток) удельная активность СДГ уменьшилась в митохондриях печени, почек, сердца и легких по сравнению с показателями крыс, получавших иNO 30 суток, на 21,08% ( $p=0,029$ ), 30,29% ( $p=0,025$ ), 28,14% ( $p=0,021$ ), 25,25% ( $p=0,032$ ) соответственно, нормализовавшись в митохондриях печени и сердца. Через 60 суток после отмены ингаляций 20ppm NO удельная активность цитохром *c* оксидазы уменьшилась в митохондриях печени, почек, сердца и легких по сравнению с показателями крыс, получивших иNO 30 суток, на 12,18% ( $p=0,041$ ), 24,43% ( $p=0,036$ ), 28,51% ( $p=0,033$ ), 28,56% ( $p=0,030$ ), нормализовавшись в митохондриях печени и легких (табл. 78).

Таблица 78

Удельная активность сукцинатдегидрогеназы, цитохром *c* оксидазы в митохондриях органов здоровых крыс при хроническом воздействии АФК

Орган	Условия эксперимента	СДГ, мкмоль/л×мин×мг белка	Цитохром-с-оксидаза, ммоль/л×мин×мг белка	
Печень	интактные крысы	518,016±15,337	582,071±11,124	
	20 ppm NO	30 суток	656,250±10,124*	660,205±15,378*
		60 суток	517,883±12,005**	579,788±12,469**
	50 ppm NO	30 суток	379,100±9,368*	368,138±19,035*
		60 суток	521,003±10,459**	415,276±20,431*/**
	100 ppm NO	30 суток	403,567±12,583*	323,786±16,217*
		60 суток	446,012±9,096*/**	348,905±13,994*
	СК	30 суток	619,236±13,120*	741,423±21,032*
60 суток		520,143±11,324**	580,791±14,186**	
Почки	интактные крысы	187,898±10,275	197,647±8,522	
	20 ppm NO	30 суток	449,897±15,141*	307,110±10,394*
		60 суток	313,640±12,895*/**	232,080±13,002*/**
	50 ppm NO	30 суток	338,973±20,547*	117,631±9,954*
		60 суток	290,562±13,652*/**	125,083±11,675*
	100 ppm NO	30 суток	589,777±27,003*	108,224±7,352*
		60 суток	582,567±26,158*	113,574±11,849*
	СК	30 суток	214,213±13,571	355,755±23,036*
60 суток		195,863±15,213	227,091±18,275**	
Сердце	интактные крысы	214,179±10,068	210,243±8,765	
	20 ppm NO	30 суток	297,669±11,159*	500,780±15,877*
		60 суток	213,905±12,274**	358,000±22,164*/**
	50 ppm NO	30 суток	126,480±14,360*	140,667±13,185*
		60 суток	155,774±12,318*	169,560±11,279*
	100 ppm NO	30 суток	475,818±22,015*	130,268±8,564*
		60 суток	98,443±6,392*/**	175,732±10,137*/**
	СК	30 суток	347,065±13,741*	336,350±17,328*
60 суток		218,745±15,093**	236,351±9,356**	
Легкие	интактные крысы	92,828±3,244	674,880±13,704	

20 ppm NO	30 суток	177,940±15,123*	965,910±21,853*
	60 суток	133,005±9,027*/**	690,017±18,460**
50 ppm NO	30 суток	366,627±21,105*	429,785±20,135*
	60 суток	369,702±14,382*	523,199±16,436*/**
100 ppm NO	30 суток	297,945±17,253*	416,827±15,220*
	60 суток	198,643±15,004*/**	472,436±14,353*/**
СК	30 суток	340,910±20,561*	1167,900±31,045*
	60 суток	226,813±13,275*/**	802,446±25,017*/**

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 30 сутками ( $p < 0,05$ ).

Длительное воздействие (30 суток) NO в концентрации 50ppm вызвало снижение удельной активности СДГ в митохондриях печени и сердца на 26,82% ( $p=0,031$ ) и 40,95% ( $p=0,015$ ), но повышение в митохондриях почек и легких. После 30-дневных ингаляций 50ppm NO активность цитохром *c* оксидазы уменьшилась в митохондриях печени, почек, сердца и легких на 36,75% ( $p=0,028$ ), 40,48% ( $p=0,023$ ), 33,09% ( $p=0,014$ ), 36,32% ( $p=0,012$ ) (табл. 78). По сравнению с показателями интактных крыс через 60 суток после ингаляций 50ppm NO активность цитохром *c* оксидазы была меньше в митохондриях печени, почек, сердца и легких на 28,66% ( $p=0,025$ ), 36,71% ( $p=0,021$ ), 19,35% ( $p=0,037$ ) и 22,48% ( $p=0,030$ ).

Ингаляции здоровых крыс NO в концентрации 100ppm на протяжении 30 суток привели к снижению удельной активности СДГ в митохондриях печени на 22,09% ( $p=0,034$ ), уменьшению удельной активности цитохром *c* оксидазы в митохондриях печени, почек, сердца и легких на 44,37% ( $p=0,012$ ), 45,24% ( $p=0,020$ ), 38,04% ( $p=0,025$ ), 38,23% ( $p=0,027$ ) (табл. 78). Из-за нарушений на цитохромном участке энергетическая эффективность работы дыхательной цепи уменьшается, как и способность формировать срочные адаптационные механизмы [216]. В восстановительный период после отмены ингаляций 100ppm NO (60 суток) по сравнению с показателями крыс, получавших ингаляции на протяжении 30 суток, удельная активность СДГ уменьшилась в митохондриях сердца и легких в 4,8 раза ( $p < 0,001$ ) и на 33,33% ( $p=0,029$ ), активность цитохром *c* оксидазы оказалась меньше показателей интактных крыс в митохондриях печени, почек, сердца и легких.

Показано, что 30-дневное ингаляционно-наружное применение 20 ppm NO вызвало снижение концентрации глюкозы в плазме и эритроцитах на

30,41% ( $p=0,025$ ) и 14,66% ( $p=0,034$ ). Через 60 суток после отмены ингаляций 20 ppm NO содержание глюкозы нормализовалось (рис. 55).

Ингаляционно-наружное применение NO на протяжении 30 дней привело к росту уровня глюкозы в плазме и эритроцитах при использовании 50 ppm NO на 49,91% ( $p=0,028$ ) и 37,07% ( $p=0,031$ ), после ингаляций 100 ppm NO – на 84,35% ( $p=0,010$ ) и в 2,6 раза ( $p<0,001$ ) по сравнению с показателями intactных крыс. В восстановительный период (60 суток) после ингаляций 50 ppm NO содержание глюкозы нормализовалось, после отмены окислительных нагрузок 100 ppm NO концентрация глюкозы осталась повышенной в плазме на 51,66% ( $p=0,030$ ) и эритроцитах на 71,89% ( $p=0,014$ ) по сравнению с показателями intactных крыс.

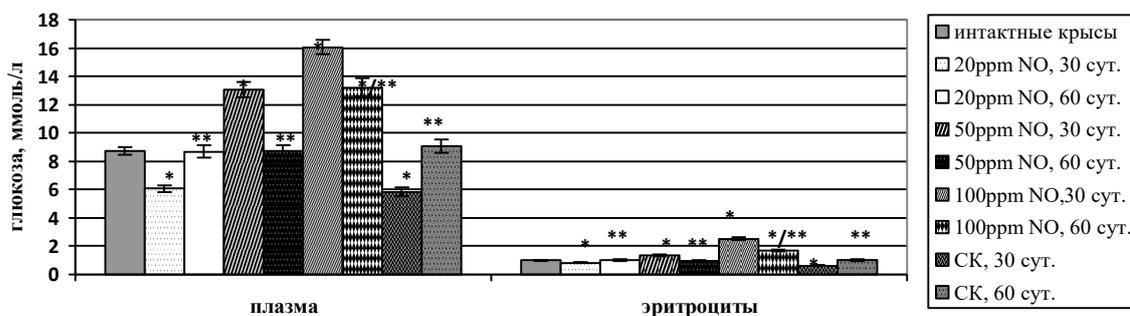


Рис. 55. Концентрация глюкозы в крови здоровых крыс при хроническом воздействии АФК и АФА

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с intactными крысами ( $p<0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 30 сутками ( $p<0,05$ ).

Установленная гипергликемия в результате воздействия 50ppm и 100ppm NO может быть энергетическим подкреплением адаптационных ресурсов крови на длительное применение NO вследствие активации гликолиза, глюконеогенеза и гликогенолиза. иNO, как стресс-фактор, может активировать гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальную систему, стимулирующую выработку глюкокортикоидов и катехоламинов, в результате развивается гипергликемия [83; 366]. Катехоламины, активируя фосфорилазу, ускоряют процессы гликогенолиза и выделение глюкозы в системный кровоток. В то же время АФК оказывают цитотоксическое влияние на клетки поджелудочной железы, обладающие слабой антиоксидантной активностью [246; 366], в результате снижается

образование инсулина и повышается уровень глюкозы в крови. Уменьшение распада глюкозы может вызвать накопление лактата [366].

Установлено, что 30-дневное применение иNO в концентрации 20 ppm вызвало снижение концентрации лактата в плазме и эритроцитах на 37,65% ( $p=0,022$ ) и 24,01% ( $p=0,036$ ) по сравнению с показателями интактных животных, которая нормализовалась через 60 суток в эритроцитах (рис. 56).

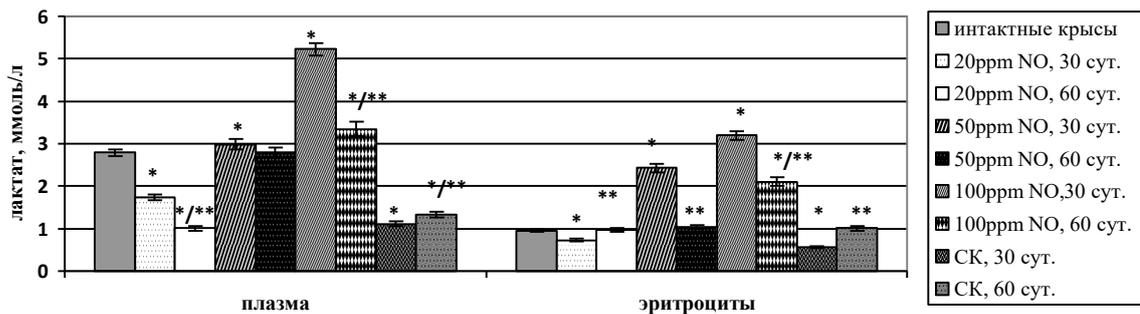


Рис. 56. Концентрация лактата в крови здоровых крыс при хроническом воздействии АФК и АФА

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ( $p<0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 30 сутками ( $p<0,05$ ).

Ингаляционно-наружное применение NO на протяжении 30 дней привело к росту уровня лактата в плазме и эритроцитах крови в концентрации 50 ppm на 7,07% ( $p=0,043$ ) и в 2,5 раза ( $p<0,001$ ), в концентрации 100 ppm – на 87,47% ( $p=0,005$ ) и в 3,3 раза ( $p<0,001$ ) по сравнению с показателями интактных крыс. В восстановительный период (60 суток) содержание молочной кислоты в плазме и эритроцитах после ингаляций 50 ppm NO нормализовалось, и было повышенным после ингаляций 100 ppm NO по сравнению с уровнем лактата интактных крыс на 20,17% ( $p=0,035$ ) и в 2,2 раза ( $p<0,001$ ). Увеличение лактата вызывает снижение pH крови и концентрации бикарбоната, способствуя развитию метаболического ацидоза. Повышению концентрации лактата в крови может способствовать снижение перфузии ткани, уменьшение содержания кислорода в крови. Таким образом, длительные ингаляции (30 суток) 20ppm NO привели к стимуляции энергетического метаболизма в органах, снижении концентрации лактата и накоплению пирувата.

### 3.2.3.2. Влияние хронического применения ингаляций синглетного кислорода на каталитические свойства окислительно-восстановительных ферментов

СКТ эффективно используется при лечении ряда заболеваний [118; 345]. При этом СК влияет на развитие таких патологических процессов, как катаракта, протопорфирии, синдром ишемии-реперфузии [366; 550; 610; 785], вероятно, в результате интенсификации СРО. Поэтому в данной части работы представлены результаты активности осидоредуктаз при ингаляционно-наружном использовании газовой смеси, содержащей СК, в условиях его хронического воздействия на организм [366]. По данным биохемилюминесценции отмечено снижение СРО в плазме крови через 30 и 60 суток после применения газовой смеси, содержащей СК, по сравнению с показателем интактных крыс на 36,96% ( $p=0,027$ ) и 14,57% ( $p=0,038$ ) соответственно. В эритроцитах через 30 суток после ингаляций СК также выявлено снижение S на 20,92% ( $p=0,025$ ), что коррелирует с повышением резистентности мембран к воздействию перекиси водорода. Через 60 суток после воздействия СК в эритроцитах показатель S нормализовался (рис. 53).

Снижение общего уровня прооксидантного баланса на фоне длительного воздействия газовой смеси, содержащей СК, подтвердили данные определения МДА, концентрация которого в плазме крови после 30 суток ингаляций СК уменьшилась на 11,17% ( $p=0,035$ ) [366]. Через 60 суток после применения СК уровень МДА в плазме был ниже показателей интактных животных и крыс с 30-дневным воздействием СК в 2,2 раза ( $p<0,001$ ) и на 47,7% ( $p=0,005$ ) соответственно (рис. 54).

Длительное (30 суток) использование СК привело к ингибированию СРО по сравнению с показателями интактных крыс, параметр S уменьшился в гомогенате, цитозоле, митохондриях печени на 18,50% ( $p=0,037$ ), 11,75% ( $p=0,038$ ), 11,58% ( $p=0,041$ ), почек – на 13,40% ( $p=0,035$ ), 22,89% ( $p=0,031$ ), 36,43% ( $p=0,012$ ) соответственно, концентрация МДА снизилась в гомогенате, цитозоле, митохондриях печени на 37,55% ( $p=0,028$ ), 21,01%

( $p=0,034$ ), 38,33% ( $p=0,025$ ), почек – на 16,23% ( $p=0,035$ ), 30,96% ( $p=0,027$ ), 45,74% ( $p=0,011$ ). Спустя 60 суток после ингаляций СК интенсивность биохемилюминесценции нормализовалась в субклеточных фракциях печени, почек, концентрация ТБК-активных продуктов нормализовалась в цитозоле и митохондриях печени, субклеточных фракциях почек (табл. 73).

Отмечена активация СРО в сердце, легких после 30 дней воздействия СК: показатель S увеличился в гомогенате, цитозоле, митохондриях сердца на 14,68% ( $p=0,035$ ), 27,92% ( $p=0,026$ ), 49,40% ( $p=0,023$ ), легких – на 23,57% ( $p=0,034$ ), 48,09% ( $p=0,027$ ), 46,78% ( $p=0,021$ ), концентрация МДА возросла в гомогенате, цитозоле, митохондриях сердца на 13,32% ( $p=0,039$ ), 26,90% ( $p=0,034$ ), 34,06% ( $p=0,028$ ), легких – на 21,58% ( $p=0,036$ ), 36,42% ( $p=0,025$ ), 13,55% ( $p=0,059$ ) соответственно по сравнению с показателями интактных крыс. Через 60 суток после ингаляций СК показатель S нормализовался в гомогенате сердца, гомогенате и митохондриях легких, содержание МДА нормализовалось в гомогенате и цитозоле сердца, цитозоле легких.

Длительное ингаляционно-наружное воздействие СК (30 суток) привело к статистически значимому росту ОАА, активности СОД, каталазы, ГР, Гл-6-фДГ по сравнению с показателями интактных животных в субклеточных фракциях печени, почек, сердца, легких (табл. 75). На фоне нормализации ОАА в гомогенате печени в восстановительном периоде (60 суток) после ингаляций СК по сравнению с показателями интактных крыс ОАА, активность СОД, каталазы, ГР, Гл-6-фДГ были повышены во всех субклеточных фракциях печени. В субклеточных фракциях почек, сердца, легких на 60-е сутки после применения СК по сравнению с показателями интактных крыс ОАА, активность СОД, каталазы, ГР, Гл-6-фДГ нормализовались или были повышены.

30-дневное воздействие СК вызвало снижение ОАА плазмы крови на 12,45% ( $p=0,041$ ), но повышение в эритроцитах активности СОД, каталазы, ГР, Гл-6-фДГ. По сравнению с показателями интактных крыс в плазме крови

на 60-е сутки после применения СК ОАА, активность каталазы нормализовались, активность СОД, ГР и Гл-6-фДГ была повышена (табл. 74).

Активность АлДГ повысилась по сравнению с показателями интактных животных после ингаляционно-наружного применения СК на протяжении 30 суток в эритроцитах, цитозоле, митохондриях печени на 48,44% ( $p=0,021$ ), 22,58% ( $p=0,039$ ), 97,51% ( $p=0,005$ ), в гомогенате, цитозоле, митохондриях почек – на 66,09% ( $p=0,020$ ), в 2,2 раза ( $p<0,001$ ), на 87,97% ( $p=0,004$ ), сердца – на 36,27% ( $p=0,025$ ), 21,36% ( $p=0,038$ ), 21,10% ( $p=0,040$ ), легких – на 20,39% ( $p=0,035$ ), 51,32% ( $p=0,027$ ), 58,58% ( $p=0,023$ ) (табл. 76). Через 60 суток после ингаляций СК удельная активность АлДГ нормализовалась в митохондриях печени, цитозоле сердца, гомогенате легких.

Показано увеличение активности АДГпр, АДГобр после хронических ингаляций СК (30 суток) во всех субклеточных фракциях органов. 30-дневные ингаляции СК привели к снижению соотношения АДГпр/АДГобр в гомогенате и митохондриях печени, гомогенате и цитозоле почек, цитозоле сердца. В восстановительный период (60 суток) после отмены ингаляций СК отмечена нормализация удельной активности АДГ в прямой, обратной реакциях во всех субклеточных фракциях печени, почек, сердца, АДГпр/АДГобр – печени, почек, сердца, легких (табл. 77).

30-дневное применение СК вызвало снижение концентрации глюкозы в плазме и эритроцитах в 1,5 раза ( $p=0,022$ ) и на 35,23% ( $p=0,019$ ), которое через 60 суток нормализовалось (рис. 55). 30-дневное ингаляционно-наружное применение СК привело к снижению концентрации лактата в плазме и эритроцитах в 2,5 раза ( $p<0,001$ ) и на 41,65% ( $p=0,018$ ), по сравнению с показателями интактных животных через 60 суток после ингаляций СК содержание лактата в плазме крови уменьшилось в 2,1 раза ( $p<0,001$ ) и нормализовалось в эритроцитах (рис. 56).

Ингаляции здоровых крыс СК на протяжении 30 суток привели к повышению удельной активности СДГ в митохондриях печени (19,54% ( $p=0,040$ )), сердца (62,04% ( $p=0,023$ )) и легких (в 3,7 раза). После 30-дневных

ингаляций здоровых крыс СК удельная активность цитохром *c* оксидазы возросла в митохондриях печени, почек, сердца и легких на 27,38% ( $p=0,034$ ), 79,99% ( $p=0,017$ ), 59,98% ( $p=0,023$ ), 73,05% ( $p=0,022$ ) (табл. 78). В восстановительный период после отмены ингаляций СК удельная активность СДГ была повышена в митохондриях легких и нормализовалась в митохондриях печени и сердца. Через 60 суток после отмены ингаляций СК удельная активность цитохром *c* оксидазы нормализовалась в митохондриях печени, почек и сердца, оказавшись больше показателя интактных крыс в митохондриях легких на 18,90% ( $p=0,040$ ).

Таким образом, в условиях хронического эксперимента подтвержден дозозависимый эффект действия NO. NO в концентрации 20ppm минимально инициировал СРО в крови и органах с преимущественным защитным антиоксидантным действием как на системном уровне (кровь), так и на клеточном (эритроциты и субклеточные фракции органов). Изменения про- и антиоксидантного статуса под влиянием NO при длительном его применении в концентрациях 50ppm и 100ppm свидетельствовали об изменении окислительного потенциала на системном уровне (кровь и органы) и могли быть одной из причин уменьшения иммунореактивности организма [366; 829]. Хроническое введение АФК в концентрациях 50ppm и 100ppm оказало стимулирующее влияние на прооксидантный статус и ингибирующее действие на антиоксидантный статус крови и органов. Снижение интенсивности окислительных процессов установлено также для токсического действия  $O_2$  в исследованиях гипероксии, связанной с вдыханием  $O_2$  под повышенным давлением [212]. Пусковые механизмы действия гипербарического  $O_2$  на клетку (организм) реализуются через прямое (посредством включения  $O_2$  в электрон-транспортные сети митохондрий), опосредованное (через свободнорадикальные механизмы) и рефлекторное (через рецепторы) влияние [212; 358]. Активация АОС в восстановительный период (60 суток) после отмены ингаляций NO во всех

исследуемых концентрациях (20ppm, 50ppm, 100ppm) представляет собой адаптивное изменение в ответ на хроническое действие NO.

Длительные ингаляции NO в концентрации 20ppm способствовали обратимой умеренной физиологической активации оксидоредуктаз, оказали позитивное влияние на ферментативное звено системы биотрансформации в крови и органах, стимулирующее влияние на энергетику митохондрий, которые нормализовалось через 60 после прекращения ингаляций. Ингаляции NO в высоких концентрациях (50ppm и 100 ppm) оказали негативное влияние на окислительный и энергетический метаболизм крови и органов (гипергликемия, нарастание тканевой гипоксии, снижение детоксикационной функции органов, ингибирование СДГ и цитохром с оксидазы), показатели которого нормализовались через 60 суток после применения 50ppm и оказались необратимо измененными после прекращения воздействия 100ppm. Следовательно, детоксикационная, антиоксидантная и энергетическая системы органов после длительного курса ингаляций 100ppm NO (30 суток) и через 60 суток не восстановились. Повышение удельной активности АДГпр, АДГобр, снижение АДГпр/АДГобр в субклеточных фракциях органов свидетельствовало о росте детоксикационной функции тканей, уменьшении концентрации ацетальдегида. Рост соотношения АДГпр/АДГобр после ингаляций 50ppm и 100ppm NO в течение 30 суток по сравнению с АДГпр/АДГобр здоровых крыс без лечения способствовал увеличению в ткани органов высокотоксичного ацетальдегида. Можно заключить, что в условиях моделирования хронического воздействия АФК наиболее оптимальными для ингаляционного применения NO оказались низкие концентрации (20ppm).

Результаты проведенного исследования позволяют констатировать, что длительное ингаляционно-наружное воздействие газовой смеси, содержащей СК, на протяжении 30 суток снизило прооксидантный статус и повысило антиоксидантную защиту в организме животных, с нормализующим эффектом спустя 60 суток после применения СК [366]. Это

свидетельствовало о положительных изменениях антиоксидантных ресурсов в органах и тканях и создало условия для обрыва процессов ПОЛ. Участие СК в процессах СРО обусловлено, вероятно, его способностью присоединяться по месту двойных связей к молекулам полиненасыщенных жирных кислот с формированием гидропероксидов [345; 366]. Показано, что 30-дневное применение СК привело к росту детоксикационной функции крови и тканей органов, обладало гипогликемическим эффектом, снизило признаки гипоксии, активировало энергетический метаболизм крови и органов и фосфорилирующее дыхание митохондрий, повысило активность СДГ и цитохром *c* оксидазы в митохондриях печени, почек, сердца и легких. Отдаленные результаты (60 суток) ингаляционно-наружного применения СК, свидетельствовали о нормализации исследуемых биохимических показателей: удельной активности АлДГ в эритроцитах крови и органах, соотношения АлДГпр/АлДГобр в печени, почках, сердце и легких, концентрации молочной кислоты и глюкозы в плазме и эритроцитах крови, удельной активности СДГ и цитохром *c* оксидазы в митохондриях печени, почек и сердца.

### **Выводы по главе 3.2.**

1. Обработка крови холодной плазмой, содержащей 800 ppm NO, при использовании NOmin, NOmax, вызвала повышение концентрации лактата, глюкозы, МДА, показателя  $tg2\alpha$ , снижение активности АлДГ, СОД, каталазы, ГР, Гл-6-фДГ, ЛДГпр, ЛДГобр, КБЭР. Наиболее выраженные изменения биохимических показателей крови отмечены при использовании NOmax.

2. Выявлен дозозависимый эффект действия иNO, ДНКЖ, СК на окислительный и энергетический метаболизм консервированной крови.

3. Высокие концентрации NO (50 ppm и 100 ppm), ДНКЖ (0,6 мкмоль/л и 3 мкмоль/л) повысили концентрации лактата, глюкозы, МДА и снизили КБЭР, АлДГ, активности антиоксидантных ферментов консервированной крови. Низкие концентрации NO (20 ppm), ДНКЖ (0,3 мкмоль/л) способствовали снижению уровня лактата, глюкозы и СРО, росту КБЭР,

активности АлДГ и антиоксидантных ферментов. ДНКЖ в концентрации 0,15 мкмоль/л уменьшили уровень лактата, глюкозы, повысили активность АлДГ, СОД и каталазы крови. Применение СК при всех мощностях генератора (50% и 100%) вызвало снижение концентрации глюкозы, лактата в консервированной крови. 100% интенсивности СК повысили активность АлДГ, ЛДГ, КБЭР, ОАА, СОД, каталазы, ГР, Гл-6-фДГ, снижение МДА. При низкой интенсивности (50%) СК отмечен рост активности СОД и каталазы.

4. Выявлен смешанный тип ингибирования для СОД, каталазы и неконкурентный – для ГР и Гл-6-фДГ в консервированной крови под влиянием  $\text{NO}_{\text{min}}$  и  $\text{NO}_{\text{max}}$  от аппарата «Плазон», 100 ppm и  $\text{NO}$ , 0,2 мл и 1 мл ДНКЖ. В крови *in vitro* отмечено конкурентное ингибирование ЛДГпр, ЛДГобр, АлДГ под влиянием  $\text{NO}_{\text{min}}$  и  $\text{NO}_{\text{max}}$  (от «Плазон»), 100 ppm и  $\text{NO}$ , АлДГ – под влиянием 50 ppm и  $\text{NO}$ , 3 мкмоль/л ДНКЖ.

5. Активация АлДГ, ЛДГ, СОД, каталазы, ГР и Гл-6-фДГ в эритроцитах консервированной крови под влиянием низких концентраций и  $\text{NO}$  и ДНКЖ, СК обусловлена снижением  $K_t$  и увеличением  $V_{\text{max}}/K_t$ .

6. Установлен дозозависимый эффект действия и  $\text{NO}$  на окислительный и энергетический метаболизм крови здоровых крыс: 100ppm  $\text{NO}$  интенсифицировали СРО, снизили активность каталазы, ГР, Гл-6-фДГ, повысили лактат и глюкозу, под воздействием 20ppm  $\text{NO}$  и 50ppm  $\text{NO}$  уменьшилась концентрация лактата и глюкозы, МДА и показателя S, повысилась активность антиоксидантных ферментов. Выявлено снижение уровня лактата, глюкозы в крови под влиянием 0,3 мкмоль/л ДНКЖ и ингаляции СК при мощности генератора 100%.

7. Под влиянием 20ppm и  $\text{NO}$  выявлен рост КБЭР в гомогенате печени, почек, сердца и легких. Активность ЛДГпр, ЛДГобр возросла под влиянием 20ppm, 50ppm и 100ppm и  $\text{NO}$  в сердце. КБЭР снизился в сердце и легких под влиянием 100ppm и  $\text{NO}$ , в печени и почках – 50ppm и 100ppm и  $\text{NO}$ . После ингаляций здоровых крыс 100ppm  $\text{NO}$  КБЭР уменьшился в легких> сердце> печени> почках. Под влиянием ДНКЖ выявлен рост активности ЛДГпр

(легкие> сердце> печень> почки), ЛДГобр (сердце> легкие> печень> почки), КБЭР. Отмечено повышение КБЭР (легкие> сердце> печень> почки), удельной активности ЛДГпр и ЛДГобр в сердце> легких> печени> почках после ингаляций СК.

8. Ингаляции здоровых крыс 20 ppm NO, ДНКЖ, СК вызвали повышение удельной активности СДГ и цитохром с оксидазы в митохондриях всех исследуемых органов. Органы располагались под влиянием ДНКЖ для СДГ: сердце> почки> легкие> печень, для цитохром с оксидазы: почки> печень> легкие> сердце; после ингаляции СК для СДГ: печень> сердце> легкие> почки, для цитохром с оксидазы: сердце> почки> печень> легкие, под воздействием 20 ppm NO для СДГ: легкие> сердце> почки> печень, и цитохром с оксидазы: почки> легкие> печень> сердце. Ингаляции здоровых крыс NO в концентрации 50 ppm привели к росту удельной активности цитохром с оксидазы в митохондриях органов: почки> сердце> печень> легкие. Активность СДГ здоровых крыс после ингаляций 50 ppm NO возросла в митохондриях легких> печени> почек. Ингаляции здоровых крыс NO в концентрации 100 ppm вызвали снижение удельной активности СДГ и цитохром с оксидазы в митохондриях почек и легких.

9. Под влиянием 20ppm NO активность АДГпр возросла в субклеточных фракциях сердца> почек> легких> печени, АДГобр – легких> почек> сердца> печени, АДГпр/АДГобр снизилось в гомогенате, цитозоле, митохондриях легких> почек> сердца> печени. Установлено повышение удельной активности АДГпр, АДГобр, АДГпр/АДГобр в субклеточных фракциях органов после ингаляций 50ppm NO с максимальным ростом АДГпр/АДГобр в легких, минимальным – почках. После ингаляций 100ppm NO наибольший рост активности АДГпр и АДГобр здоровых крыс выявлен в почках, наименьший в легких, наблюдалось повышение АДГпр/АДГбр во всех субклеточных фракциях печени> сердца> почек> легких. Выявлено повышение удельной активности АДГпр, АДГобр после ингаляций СК во всех субклеточных фракциях сердца> легких> почек> печени. Установлено

снижение АДГпр/АДГобр после ингаляций СК в субклеточных фракциях почек> легких> печени> сердца. Выявлен рост активности АДГпр, АДГобр, снижение АДГпр/АДГобр под влиянием ДНКЖ в субклеточных фракциях органов для АДГпр: легкие> почки> печень> сердце, для АДГобр: легкие> печень> почки> сердце, для АДГпр/АДГобр: почки> сердце> печень> легкие.

10. Ингаляции здоровых крыс 20ppm NO вызвали повышение удельной активности АлДГ в крови и субклеточных фракциях сердца> печени> почек> легких, в концентрации 100ppm – снижение активности АлДГ в крови и органах с наибольшим падением в легких. ДНКЖ и СК активировали АлДГ в крови и всех субклеточных фракциях паренхиматозных органов: сердце> печень> почки> легкие.

11. Установлено повышение ОАА, активности СОД, каталазы, ГР и Гл-6-фДГ в субклеточных фракциях паренхиматозных органов после ингаляций здоровых крыс 20 ppm NO: для ОАА, СОД, ГР – легкие> сердце> почки> печень; каталазы: почки> сердце> легкие> печень; Гл-6-фДГ: легкие> почки> сердце> печень. Под влиянием 50 ppm и NO ОАА увеличилась в почках> легких> сердце> печени; активность СОД, каталазы – в легких> почках> сердце> печени; ГР и Гл-6-фДГ – в легких> сердце> печени> почках. 100 ppm NO вызвали снижение активности антиоксидантных ферментов и ОАА.

12. ДНКЖ и СК активировали ОАА, СОД, каталазу, ГР и Гл-6-фДГ в субклеточных фракциях органов. Под влиянием ДНКЖ ОАА, СОД, каталаза возросли в легких> почках> сердце> печени, ГР – в легких> сердце> почках> печени, Гл-6-фДГ – в легких> печени> почках> сердце. Под влиянием СК отмечен рост ОАА (почки> легкие> сердце> печень), активности СОД и ГР (легкие> почки> сердце> печень), каталазы (сердце> печень> легкие> почки), Гл-6-фДГ (легкие> сердце> печень> почки).

13. Ингаляции 20 ppm NO вызвали снижение концентрации МДА в печени>почках>сердце, показателя S – в печени> сердце>почках. Ингаляции 100 ppm NO в органах повысили концентрацию МДА (сердце> почки>легкие >печень), показатель S (легкие>почки>печень> сердце). Отмечено

снижение показателя S и концентрации МДА под влиянием ДНКЖ в печени> сердце> легких> почках; после ингаляций СК для МДА: в почках> печени> сердце> легких, для показателя S: в печени> почках> сердце> легких.

14. Ингаляции 20ppm NO на протяжении 30 суток привели к незначительной стимуляции СРО в субклеточных фракциях печени, почек и сердца, которая нормализовалась спустя 60 суток после воздействия NO. Впервые показано, что ингаляции NO в концентрации 50ppm и 100ppm на протяжении 30 суток повысили интенсивность биохемилюминесценции и концентрацию МДА в плазме и эритроцитах, субклеточных фракциях печени, почек, сердца и легких. Через 60 суток после воздействия 50ppm и NO концентрация МДА нормализовалась в цитозоле печени, митохондриях почек, гомогенате и митохондриях легких, плазме, эритроцитах крови. Через 60 суток после ингаляций 100ppm NO содержание ТБК-активных продуктов нормализовалось в цитозоле печени, было больше во всех субклеточных фракциях легких и сердца, в гомогенате и митохондриях печени, гомогенате и цитозоле почек по сравнению с показателями интактных крыс.

15. Воздействие 20 ppm и NO на протяжении 30 суток вызвало повышение ОАА, активности СОД, каталазы, ГР и Гл-6-фДГ в эритроцитах, всех субклеточных фракциях печени, почек, сердца, легких, которые остались увеличенными или нормализовались через 60 суток после ингаляций 20ppm NO. В результате хронического воздействия (30 суток) 50ppm и 100ppm NO отмечено разнонаправленное изменение активности антиоксидантных ферментов и ОАА в ткани печени, почек, сердца, легких.

16. Через 60 суток после ингаляций 50ppm NO показатели АОС либо нормализовались (ОАА в плазме, гомогенате печени, каталазы – в гомогенате, цитозоле, митохондриях легких, гомогенате и цитозоле печени, активность ГР и Гл-6-фДГ в эритроцитах, всех субклеточных фракциях легких, печени, почек, сердца), либо повысились (ОАА – гомогенат, цитозоль, митохондрии легких, почек и сердца, цитозоль и митохондрии печени, СОД – эритроциты, все субклеточные фракции легких, почек и

сердца, каталаза – эритроциты, митохондрии печени, субклеточные фракции сердца). Через 60 суток после ингаляций 100ppm NO показатели АОС нормализовались (ГР и Гл-6-фДГ – цитозоль, митохондрии печени, СОД и ГР – все субклеточные фракции сердца), повысились (ОАА – цитозоль, митохондрии печени, все субклеточные фракции почек, сердца, легких, СОД и каталаза – цитозоль, митохондрии печени, все субклеточные фракции почек), либо снизились (активность СОД – гомогенат печени, цитозоль и митохондрии легких, каталазы – гомогенат печени, митохондрии легких, ГР и Гл-6-фДГ – гомогенат печени, Гл-6-фДГ – все субклеточные фракции почек, сердца, легких, ГР – гомогенат и митохондрии легких) по сравнению с показателями интактных крыс.

17. Установлено повышение удельной активности АлДГ в эритроцитах, субклеточных фракциях печени, почек, сердца, легких после длительных (30 суток) ингаляций при 20ppm NO и снижение – при 50ppm и 100ppm NO. Спустя 60 суток после ингаляций 20ppm NO активность АлДГ нормализовалась в субклеточных фракциях печени, почек и митохондриях сердца, была повышена в эритроцитах, гомогенате, цитозоле, митохондриях легких и в гомогенате, цитозоле сердца, после ингаляций 50ppm и 100ppm NO удельная активность АлДГ нормализовалась в субклеточных фракциях почек, сердца, легких, цитозоле и митохондриях печени.

18. Длительные (30 суток) ингаляции 20ppm NO привели к повышению удельной активности АДГпр, АДГобр во всех субклеточных фракциях печени, почек, сердца, легких, снижению АДГпр/АДГобр в гомогенате, цитозоле, митохондриях печени, в гомогенате и цитозоле почек. Ингаляции на протяжении 30 суток NO в концентрации 50ppm и 100ppm привели к снижению удельной активности АДГпр, АДГобр в субклеточных фракциях печени, почек, сердца, легких, повышению АДГпр/АДГобр в гомогенате, цитозоле, митохондриях печени, почек, сердца, росту в легких после применения 100ppm и NO. Спустя 60 суток после ингаляций NO отмечена нормализация: при 20ppm активности АДГпр, АДГобр в гомогенате,

цитозоле и митохондриях печени, АДГпр/АДГобр – в субклеточных фракциях печени, гомогенате и митохондриях почек, при 50ppm АДГпр/АДГобр – в субклеточных фракциях сердца, печени, гомогенате и митохондриях почек.

19. Показано, что 30-дневные ингаляции здоровых крыс 20 ppm NO вызвали повышение удельной активности СДГ и цитохром *c* оксидазы в митохондриях всех исследуемых органов. Через 60 суток после отмены ингаляций 20 ppm NO активность СДГ нормализовалась в митохондриях печени и сердца, цитохром *c* оксидазы – в митохондриях печени и легких. Высокие концентрации NO (50ppm, 100ppm) через 30 суток после воздействия ингибировали активность цитохром *c* оксидазы в субклеточных фракциях печени, почек, сердца и легких, которая осталась пониженной через 60 суток после отмены ингаляций. 50ppm и 100ppm NO через 30 суток после воздействия в митохондриях печени и сердца ингибировали активность СДГ, в митохондриях почек и легких – активировали. Активность СДГ осталась повышенной в митохондриях почек и легких и пониженной – митохондриях печени и сердца через 60 суток после ингаляций NO.

20. Длительное воздействие NO (30 суток) в концентрации 20 ppm вызвало снижение глюкозы, лактата, в концентрации 50 ppm и 100 ppm NO – повышение глюкозы и лактата в плазме и эритроцитах. Через 60 суток уровень молочной кислоты и глюкозы после использования 20 ppm и 50ppm NO нормализовался, после 100ppm NO – был повышенный.

21. Ингаляционно-наружное применение (30 суток) газовой смеси, содержащей СК, привело к снижению показателя S и МДА в плазме и эритроцитах, всех субклеточных фракциях печени и почек, росту S и МДА в гомогенате, цитозоле, митохондриях сердца и легких. Через 60 суток после использования СК отмечена нормализация S и МДА в эритроцитах, субклеточных фракциях печени, почек, гомогенате и цитозоле сердца.

22. Впервые показано, что воздействие СК на протяжении 30 суток активировало ОАА, активность СОД, каталазы, ГР и Гл-6-фДГ в крови, всех

субклеточных фракциях печени, почек, сердца, легких, которые остались увеличенными или нормализовались через 60 суток после ингаляций СК.

23. Ингаляции СК на протяжении 30 суток привели к повышению в эритроцитах, цитозоле, митохондриях печени, всех субклеточных фракциях почек, сердца, легких удельной активности АДГ, которая спустя 60 суток нормализовалась или осталась повышена.

24. Длительные ингаляции (30 суток) СК привели к росту удельной активности АДГпр, АДГобр в субклеточных фракциях печени, почек, сердца, легких, снижению АДГпр/АДГобр в субклеточных фракциях печени, почек. Через 60 суток после ингаляций СК АДГпр/АДГобр нормализовалось во всех субклеточных фракциях печени, почек, сердца, легких.

25. Показано снижение концентрации глюкозы и лактата в плазме и эритроцитах после 30-дневного воздействия СК, которая нормализовалась через 60 суток после отмены ингаляций СК. Длительные ингаляции здоровых крыс (30 дней) СК активировали СДГ и цитохром с оксидазу в митохондриях печени, почек, сердца и легких. В восстановительный период после отмены окислительной нагрузки (60 суток) удельная активность СДГ и цитохром с оксидазы нормализовалась в митохондриях печени, почек и сердца и осталась повышенной в митохондриях легких.

### **3.3. Состояние ферментов биотрансформации крови и тканей под воздействием активных форм кислорода и азота при комбинированной термической травме**

#### **3.3.1. Особенности свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты крыс при комбинированной термической травме под влиянием активных форм кислорода и азота**

ТТ представляет как медицинскую, так и социально-экономическую проблему, характеризуясь высокой частотой возникновения, сложностью лечения, нередкими неблагоприятными исходами [51; 79; 524; 706]. При лечении ожогов кроме фармакологических препаратов [344] и

хирургического метода [4; 7; 29] применяют различные физические методы [293]: УФО, ультразвук [5; 427], низкоинтенсивную лазерную терапию [460; 500], фотодинамическую терапию [148; 223], светодиодное излучение синего цвета с длиной волны 470 нм [339], красный некогерентный монохроматизированный свет (600-680 нм) [67], поляризованный полихроматический некогерентный свет (480–3400 нм) [66; 300], инфракрасные лучи [406], криотерапию, озонотерапию [78], механовакуумную терапию [38], СВЧ-терапию, КВЧ-терапию, ИФ-терапию, магнитолазерное излучение на фоне озонотерапии, плазменный поток гелия [289; 454], магнитоплазменную терапию [293]. Предложен метод комбинированной терагерцовой терапии (ТГЧ) ожоговых ран воздействием эндогенного и экзогенного NO, возбуждаемого электромагнитным излучением на частотах молекулярного спектра излучения и поглощения NO [293], при котором отмечается сокращение сроков эпителизации пограничных ожогов и подготовки ран к аутодермопластике [156; 275; 289]. NO является фактором стимуляции раневого заживления, в частности, при лечении больных воздушно-плазменным потоком с помощью аппарата «Плазон» [61; 113; 293; 413]. В терапевтических целях возможно применение доноров NO, повышающих концентрацию NO и избирательно действующих на клетки и ткани, что особенно важно при ишемии и гипоксии. Ряд донаторов NO (S-нитрозо-N-ацетил-D,L-пеницилламин, S-нитрозоглутатион) индуцируют активность и накопление фактора адаптации к гипоксии (HIF-1) путем стимуляции фосфатидилинозитол-3-киназного сигнального пути, контролирующего основные функции клетки. NO может связываться с железом HIF-гидроксилаз, блокировать связывание O<sub>2</sub> и подавлять гидроксигидроксилирование HIF-1 [295; 296; 721; 886].

После воздействия иNO, ДНКЖ отмечена нормализация показателя S в плазме и эритроцитах крови (рис. 57). По сравнению с показателями крыс с ожогом концентрация МДА снизилась в плазме и эритроцитах после ингаляций NO при КТТ на 47,87% (p=0,008), в 2,4 раза (p<0,001), после

использования ДНКЖ – на 47,45% ( $p=0,007$ ), в 2,9 раза ( $p<0,001$ ) (рис. 58). Совместное применение иNO и ДНКЖ при КТТ вызвало снижение в плазме и эритроцитах показателя S на 4,59% ( $p=0,183$ ), 25,26% ( $p=0,016$ ), МДА – на 16,7% ( $p=0,022$ ), 42,48% ( $p=0,012$ ) соответственно, вызвав нормализацию МДА в эритроцитах и повышение в плазме выше значения здоровых крыс.

В настоящее время СКТ рассматривается как альтернативный метод стимуляции АОС организма [320; 800]. Курс ингаляций СК при КТТ привел к снижению показателя S в плазме (5,27% ( $p=0,095$ )), эритроцитах (38,22% ( $p=0,012$ )) (рис. 57) и нормализации МДА (рис. 58).

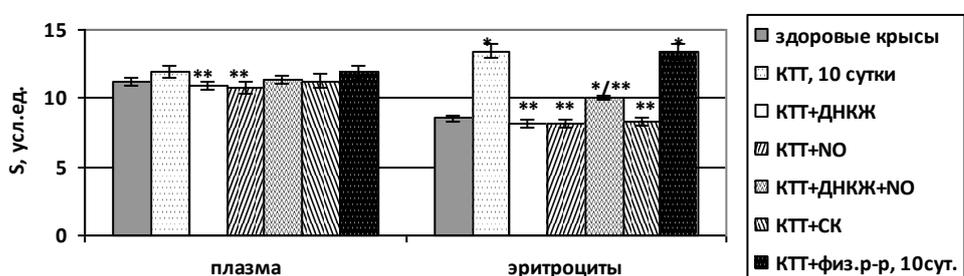


Рис. 57. Показатель S в крови крыс с КТТ после воздействия АФК и АФА  
Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p<0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ ( $p<0,05$ ).

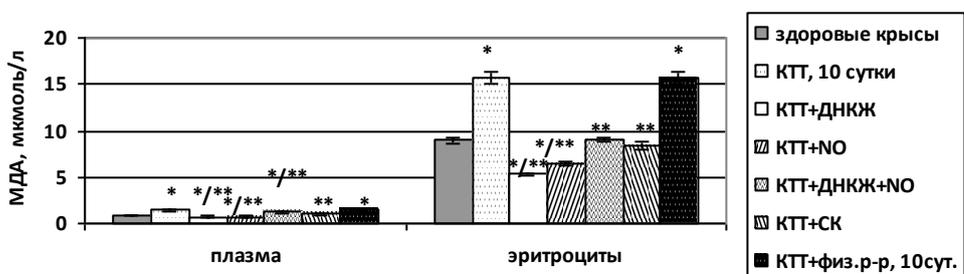


Рис. 58. Концентрация малонового диальдегида в крови крыс с КТТ после воздействия АФК и АФА

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p<0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ ( $p<0,05$ ).

По данным биохемилюминесценции ингаляции NO при КТТ привели к снижению СРО по сравнению с показателями крыс с КТТ без лечения в субклеточных фракциях органов, вызвав нормализацию S в гомогенате и цитозоле печени, гомогенате почек (рис. 59-62). Концентрация ТБК-активных продуктов снизилась после ингаляций NO по сравнению с показателями крыс с КТТ без лечения в гомогенате, цитозоле, митохондриях

печени (рис. 63), почек (рис. 64), сердца (рис. 65), легких (рис. 66), вызвав нормализацию уровня МДА в цитозоле и митохондриях почек, легких.

Терапия ДНКЖ при КТТ по данным биохемиллюминесценции привела к нормализации СРО в цитозоле и митохондриях печени и почек и снижению концентрации ТБК-активных продуктов по сравнению с показателями крыс с КТТ без лечения в субклеточных фракциях печени, почек, сердца, легких, которая нормализовалась в митохондриях печени, почек и сердца. Совместное применение ДНКЖ и иНО при КТТ также привело к снижению СРО (показатель S, концентрация МДА) по сравнению с показателями крыс с КТТ без лечения во всех субклеточных фракциях органов, вызвав нормализацию уровня ТБК-активных продуктов в цитозоле легких.

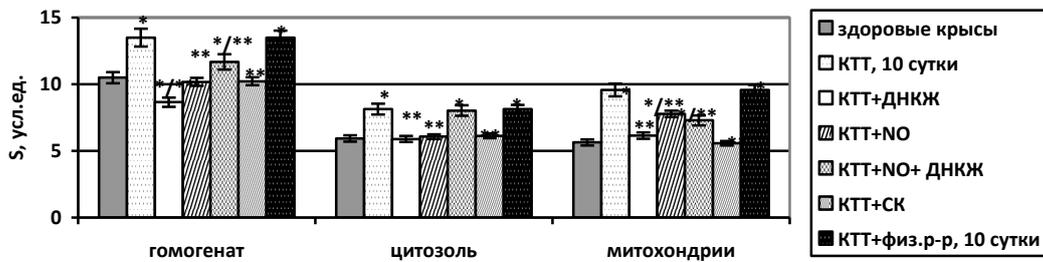


Рис. 59. Показатель S в печени крыс с КТТ после воздействия АФК и АФА  
Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ).

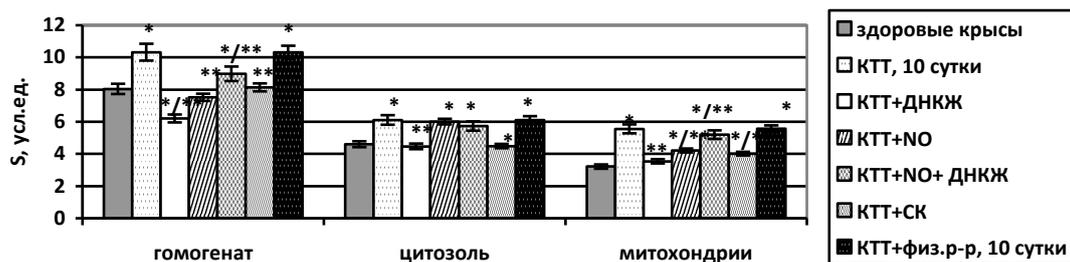


Рис. 60. Показатель S в почках крыс с КТТ после воздействия АФК и АФА  
Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ).

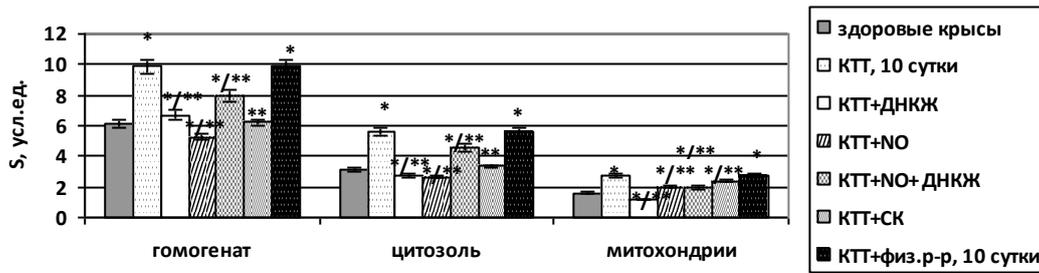


Рис. 61. Показатель S в сердце крыс с КТТ после воздействия АФК и АФА  
Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ).

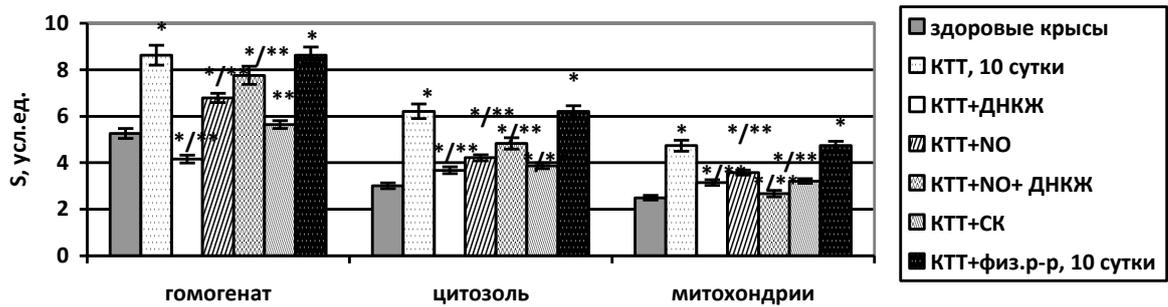


Рис. 62. Показатель S в легких крыс с КТТ после воздействия АФК и АФА  
Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ).

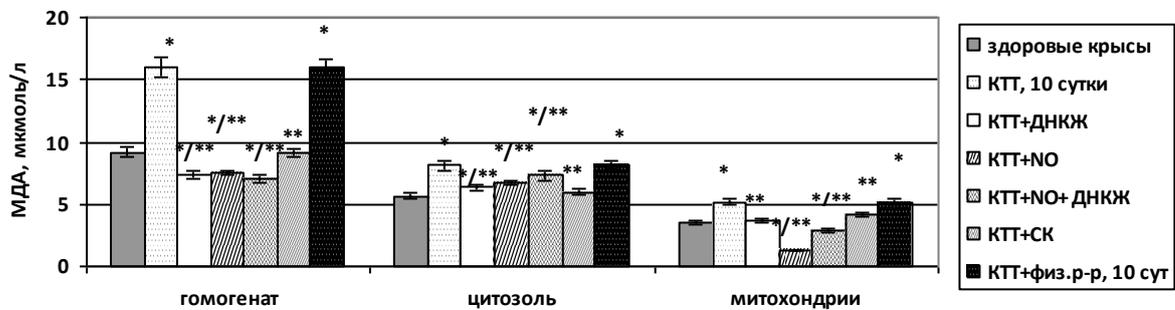


Рис. 63. Концентрация малонового диальдегида в печени крыс с КТТ после воздействия АФК и АФА  
Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ).

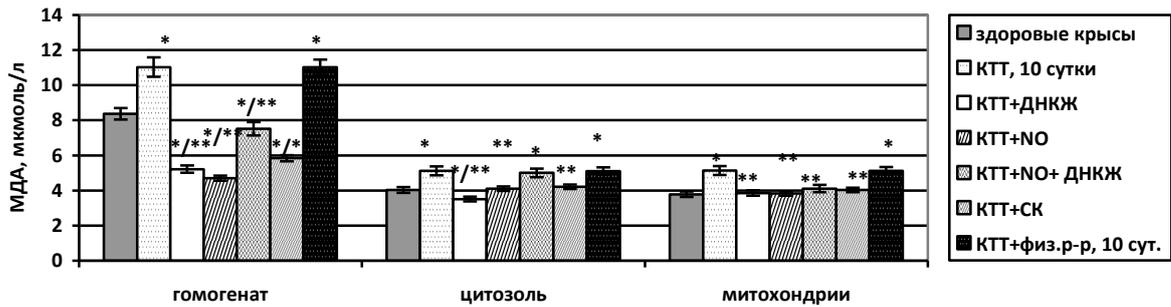


Рис. 64. Концентрация малонового диальдегида в почках крыс с КТТ после воздействия АФК и АФА

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ).

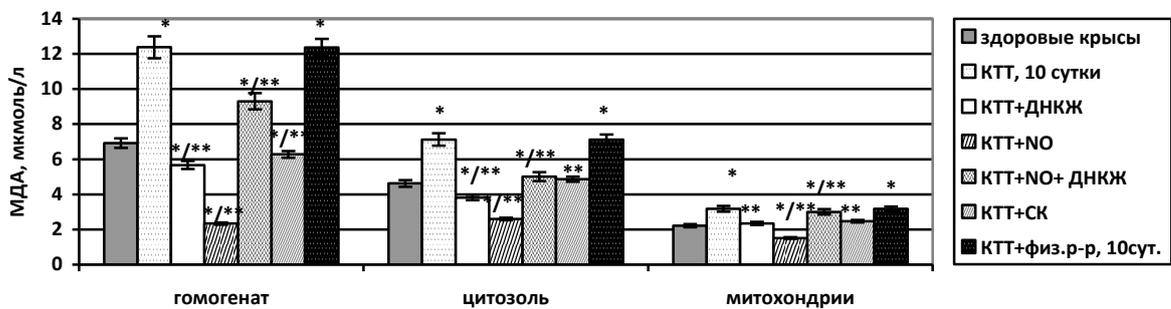


Рис. 65. Концентрация малонового диальдегида в сердце крыс с КТТ после воздействия АФК и АФА

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ).

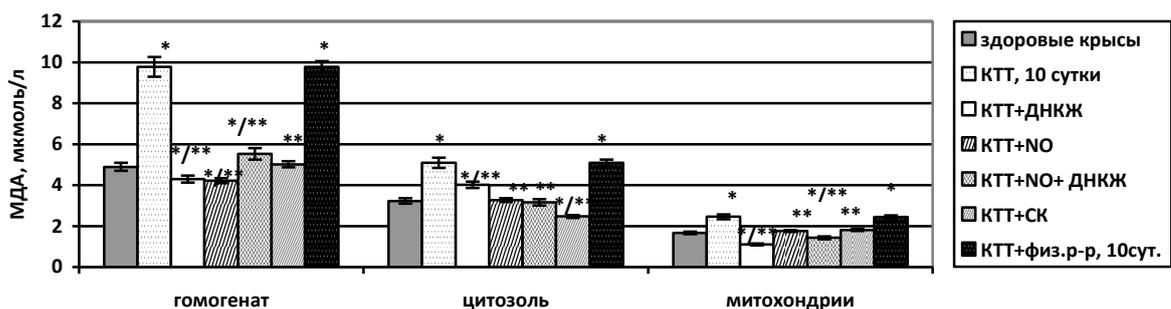


Рис. 66. Концентрация малонового диальдегида в легких крыс с КТТ после воздействия АФК и АФА

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ).

Регуляторные и сигнальные функции NO, связанные с его прямым действием, преобладают в организме при физиологических условиях, когда NO синтезируется cNOS в низких количествах [368; 385; 895]. NO' может

замедлять ПОЛ, действуя как скавенджер кислородных радикалов [368], эффективно перехватывая  $O_2^{\cdot-}$ ,  $OH^{\cdot}$ ,  $ROO^{\cdot}$ , тиольный ( $GS^{\cdot}$ ) [88; 227].

Ингаляции СК при КТТ привели к снижению СРО во всех субклеточных фракциях органов по сравнению с показателями крыс с КТТ без лечения, вызвав нормализацию интенсивности биохемилюминесценции в гомогенате печени, почек, сердца и легких, цитоплазматической фракции печени, почек и сердца, митохондриях печени, МДА – в гомогенате и цитозоле печени, цитозоле и митохондриях почек, цитозоле сердца, гомогенате и митохондриях легких. В основе СКТ лежит фотохимическая и фотоэнергетическая сенсбилизация  $O_2$  воздуха и паров  $H_2O_2$  к ультрафиолетовому электромагнитному излучению с образованием  $^1O_2$  [100; 304; 794]. В результате возрастает кинетическая энергия и амплитуда колебательных движений межмолекулярных и водородных связей. СК, поступающий в организм человека, воздействует на внутриклеточные биоэнергетические преобразования, мембранно-обменные процессы, нормализуя, следовательно, антиоксидантные функции [326].

СК и NO могут поступать в организм с помощью ингаляций, приема активированной воды, водных растворов, коктейлей и пенек. В результате использования СК и NO осуществляются биофизические и биохимические процессы: стабилизация аэробного обмена; нормализация артериального давления, биохимических показателей и антиоксидантных функций организма; улучшение реологических свойств крови, коронарного и мозгового кровообращения, тканевого дыхания; снижение гипоксии ткани и уровня молочной кислоты в мышцах; восстановление ионной проницаемости мембран клеток; стимуляция регенеративных и уменьшение воспалительных процессов; дезинтоксикация организма; повышение иммунитета [794].

СК участвует в образовании и рекомбинации в клетке других АФК, которые в малых дозах увеличивают устойчивость и нормализуют жизнедеятельность клеток организма. АФК в норме и при патологии влияют на биохимические реакции, протекающие по цепным и каскадным

механизмам, обуславливая высокую эффективность их биологического действия. СКТ вызывает восстановление кислородного гомеостаза путем снижения гипоксии в тканях и улучшения АОС организма и тканевого дыхания [100; 401; 794].

Показано, что основной физиологический донор NO, ДНКЖ, содержащий тиолатные лиганды, способен передавать NO на другую молекулу только в момент перестройки комплекса при его взаимодействии с более эффективными хелаторами железа, чем тиолатные лиганды. При отсутствии ловушки NO образуется новый комплекс с новым лигандом. Передача NO на ловушку может также происходить под действием агентов, взаимодействующих с тиолатными лигандами: солей ртути, АФК. Возможно, лиганды в ДНКЖ являются структурами, обеспечивающими взаимодействие комплекса с физиологической мишенью, а также специфичность этого взаимодействия и его эффективность [392].

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют об ингибировании интенсификации перекисных процессов во всех исследуемых органах при КТТ под влиянием АФК с максимальным снижением СРО под влиянием ДНКЖ. Совместное применение ДНКЖ и иNO при КТТ оказало менее выраженное действие по сравнению с отдельным применением ДНКЖ, иNO или СК. Ингаляции СК привели к нормализации СРО в большинстве субклеточных фракций исследуемых органов.

Одним из возможных механизмов ингибирования СРО под влиянием АФК при КТТ может выступать активация АОС. В плазме крови крыс с КТТ по сравнению с показателями здоровых крыс и крыс с КТТ ингаляции NO вызвали повышение ОАА на 12,85% ( $p=0,028$ ), ДНКЖ – на 13,81% ( $p=0,025$ ), 13,97% ( $p=0,022$ ) соответственно (рис. 67). Ингаляции СК, совместное применение ДНКЖ и иNO при КТТ не вызвали статистически значимых изменений ОАА в крови, которая была в пределах нормы.

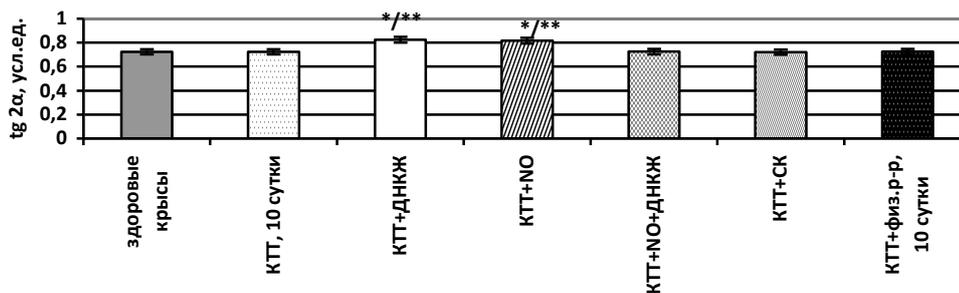


Рис. 67. Общая антиоксидантная активность в плазме крови крыс с КТТ после воздействия АФК и АФА

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p<0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ ( $p<0,05$ ).

В эритроцитах при КТТ выявлена активация СОД под влиянием всех используемых АФК, наиболее выраженная при воздействии ДНКЖ и менее выраженная при совместном использовании ДНКЖ с иNO. Удельная активность СОД возросла по сравнению с показателями крыс с КТТ и здоровых крыс под влиянием ингаляций NO на 55,03% ( $p=0,014$ ), 15,61% ( $p=0,017$ ), ДНКЖ – в 2,2 раза ( $p<0,001$ ), на 60,69% ( $p=0,007$ ), совместного применения ДНКЖ и иNO – на 47,38% ( $p=0,013$ ), 9,90% ( $p=0,039$ ), СК – на 55,53% ( $p=0,021$ ), 15,98% ( $p=0,026$ ) соответственно (рис. 68).

NO повышает активность ферментов АОС и экспрессию кодирующих их генов [368; 385; 424]. Активация СОД под влиянием NO и повышенная по сравнению с уровнем NO на 2 порядка концентрации СОД в норме в клетках и тканях организма препятствуют образованию  $ONOO^-$  [227; 385]. Показано, что экзогенная NO-терапия активирует удельную активность ЛДГ и ГР, приводя к повышению содержания НАДН или НАДФН. В результате нитритредуктазных реакций не только снижается концентрация АФА, но и удлиняется время жизни NO [227]. Применение АФК при КТТ вызвало в эритроцитах повышение активности каталазы, участвующей в катаболизме пероксинитрита. При этом ингаляции NO и СК оказали нормализующее действие, а совместное применение ДНКЖ и иNO – активирующее влияние на активность каталазы. В эритроцитах удельная активность каталазы возросла при КТТ под влиянием ингаляций NO на 92,71% ( $p<0,001$ ), ДНКЖ – на 57,08% ( $p=0,018$ ), совместного применения ДНКЖ и иNO – в 2,6 раза

( $p < 0,001$ ), СК – на 84,45% ( $p = 0,005$ ) по сравнению с показателем крыс с КТТ (рис. 69).

Экзогенные АФК вызвали повышение активности ГР и Гл-6-фДГв эритроцитах при КТТ по сравнению с показателями крыс с ожогом без лечения: после ингаляций NO – на 45,91% ( $p = 0,016$ ) и 99,34% ( $p < 0,001$ ), ДНКЖ – на 52,13% ( $p = 0,013$ ) и в 2,9 раза ( $p < 0,001$ ), совместного применения ДНКЖ и иNO – в 2,4 раза ( $p < 0,001$ ) и на 21,73% ( $p = 0,035$ ), ингаляции СК – на 27,55% ( $p = 0,014$ ) и 35,05% ( $p = 0,018$ ) (рис. 70). При этом иNO и ДНКЖ оказали нормализующее действие на ГР, СК – на Гл-6-фДГ.

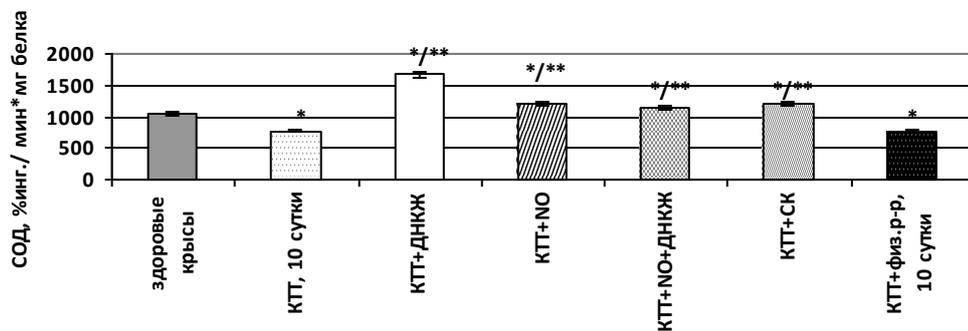


Рис. 68. Активность супероксиддисмутазы в эритроцитах крови крыс с КТТ после воздействия АФК и АФА

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ).

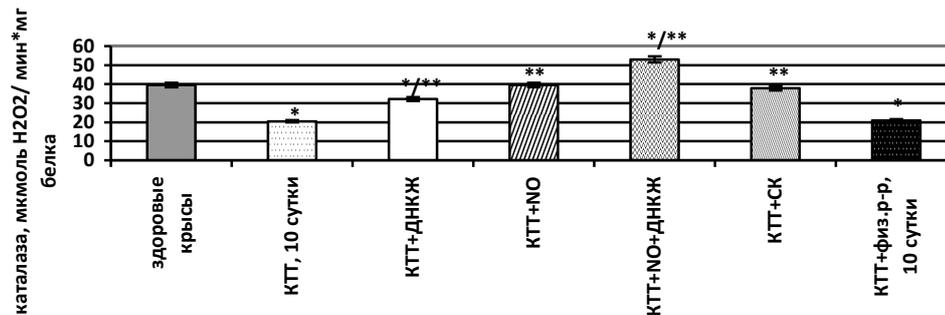


Рис. 69. Активность каталазы в эритроцитах крови крыс с КТТ после воздействия АФК и АФА

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ).

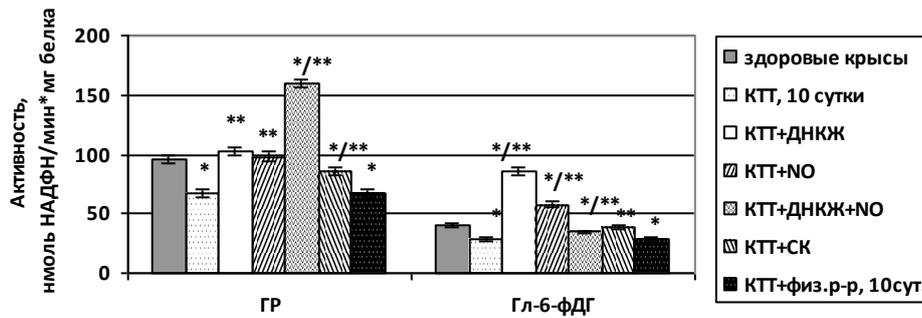


Рис. 70. Активность ГР и Гл-6-фДГ в эритроцитах крови крыс с КТТ после воздействия АФК и АФА

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, применение ДНКЖ, совместно и NO и ДНКЖ, ингаляций СК, NO при КТТ обусловлено их антиоксидантными свойствами, проявляющимися в повышении активности ферментов АОС в эритроцитах, ОАА под влиянием ДНКЖ и ингаляции NO.

Активация СОД, Гл-6-фДГ в эритроцитах при КТТ под влиянием всех исследуемых АФК обусловлена ростом сродства фермента к субстрату реакции и  $V_{max}/Kt$ . При КТТ в эритроцитах для СОД  $V_{max}/Kt$  увеличилась под влиянием ДНКЖ в 4,5 раза ( $p < 0,001$ ), ингаляций NO – в 4,4 раза ( $p < 0,001$ ), СК – в 3,6 раза ( $p < 0,001$ ), совместно и NO и ДНКЖ – в 4,3 раза ( $p < 0,001$ ), для Гл-6-фДГ  $V_{max}/Kt$  возросла при воздействии ДНКЖ в 2,2 раза ( $p < 0,001$ ), ингаляций NO – в 3,1 раза ( $p < 0,001$ ), совместно и NO и ДНКЖ – на 57,07% ( $p = 0,014$ ), СК – на 91,55% ( $p = 0,003$ ) по сравнению с показателями крыс с КТТ без лечения.  $Kt$  для Гл-6-фДГ в эритроцитах нормализовалось под влиянием ДНКЖ. Активация каталазы в эритроцитах при КТТ под влиянием АФК сопровождалось повышением  $V_{max}$  и  $V_{max}/Kt$ .  $Kt$  и  $V_{max}$  для каталазы нормализовалось под влиянием ингаляций NO при КТТ.

Рост удельной активности ГР в эритроцитах при КТТ под влиянием ДНКЖ, ингаляций NO и совместно и NO и ДНКЖ обусловлен повышением сродства фермента к субстрату реакции и  $V_{max}/Kt$ . Под влиянием СК сродство ГР к субстрату реакции было в пределах показателя здоровых крыс. Под влиянием ДНКЖ, и NO  $V_{max}/Kt$  ГР нормализовалась (табл. 79).

### Кинетические показатели ферментов АОС в крови крыс с комбинированной термической травмой после воздействия АФК и АФА

Фермент	Кинетический показатель	здоровые животные	животные с КТТ				
			10 сутки	+ДНКЖ	+NO	+СК	+NO+ ДНКЖ
СОД	Кт, мин	2,63±0,09	5,85±0,16 *	1,83±0,09 */**	2,04±0,07 */**	2,40±0,06 **	2,31±0,09 **
	V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	9,88±0,17	6,94±0,13 *	9,72±0,11 **	10,63±0,28 */**	10,35±0,21 **	11,87±0,13 */**
	V <sub>max</sub> /Кт, мкмоль/мин <sup>2</sup>	3,76±0,11	1,19±0,07 *	5,31±0,14 */**	5,21±0,13 */**	4,31±0,13 */**	5,14±0,10 */**
Каталаза	Кт, мин	0,79±0,05	1,86±0,05 *	1,13±0,07 */**	0,84±0,05 **	1,06±0,03 */**	0,52±0,03 */**
	V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	7,85±0,08	5,07±0,12 *	6,84±0,12 */**	7,99±0,14 **	10,23±0,15 */**	6,73±0,14 */**
	V <sub>max</sub> /Кт, мкмоль/мин <sup>2</sup>	9,94±0,15	2,73±0,10 *	6,05±0,06 */**	9,51±0,16 **	9,65±0,12 **	12,94±0,57 */**
ГР	Кт, мин	1,17±0,04	1,23±0,13	0,98±0,03 */**	0,74±0,02 */**	1,15±0,08	0,82±0,06 */**
	V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	8,59±0,08	6,14±0,13 *	7,15±0,13 */**	5,68±0,09 */**	7,23±0,11 */**	9,95±0,18 */**
	V <sub>max</sub> /Кт, мкмоль/мин <sup>2</sup>	7,34±0,12	4,99±0,17 *	7,30±0,20 **	7,68±0,15 **	6,29±0,10 */**	12,13±0,21 */**
Гл-6-фДГ	Кт, мин	0,58±0,03	0,65±0,10	0,43±0,04	0,39±0,02 */**	0,28±0,02 */**	0,43±0,02 */**
	V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	7,65±0,12	4,92±0,21 *	7,29±0,10 */**	9,05±0,17 */**	4,06±0,13 */**	5,11±0,10 *
	V <sub>max</sub> /Кт, мкмоль/мин <sup>2</sup>	13,19±0,06	7,57±0,14 *	16,95±0,26 */**	23,21±1,05 */**	14,50±0,20 */**	11,89±0,24 */**

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами (p<0,05); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ (p<0,05).

ОАА в органах крыс после воздействия АФК при КТТ характеризовалась большой амплитудой колебания значений. По сравнению с ОАА крыс с КТТ без лечения ОАА возросла в гомогенате, цитозоле, митохондриях печени, почек после воздействия ДНКЖ, ингаляций NO, СК, ОАА повысилась после ДНКЖ-терапии в гомогенате, цитозоле, митохондриях сердца на 85,00% (p=0,010), в 2,3 раза (p<0,001), в 3,3 раза (p<0,001), ингаляций NO – на 96,67% (p=0,005), 98,16% (p=0,001), в 2,4 раза (p<0,001), СК – на 85,00% (p=0,001), 93,87% (p=0,001), 97,14% (p<0,001), совместного применения ДНКЖ и иNO – на 43,89% (p=0,016), 19,63% (p=0,031), 85,71% (p=0,003), ОАА возросла в субклеточных фракциях легких под воздействием ДНКЖ, ингаляций NO. Таким образом, отмечена нормализация ОАА при КТТ после ДНКЖ-терапии в цитозоле печени, гомогенате сердца, гомогенате и цитоплазме легких, ингаляций NO – в гомогенате и митохондриях сердца, СК – в митохондриях печени, гомогенате

почек, всех субклеточных фракциях сердца, легких, совместно и NO и ДНКЖ – в гомогенате и цитозоле печени, субклеточных фракциях легких (табл. 80).

Таблица 80

Общая антиоксидантная активность и удельная активность ферментов в субклеточных фракциях органов крыс с комбинированной термической травмой после воздействия АФК и АФА

Орган	Субклеточная фракция	Условия эксперимента	tg2α, усл.ед.	СОД, %инг./мин× мг белка	Каталаза, мкмоль Н <sub>2</sub> О <sub>2</sub> /мин ×мг белка	ГР, нмоль НАДФН/мин× мг белка	Гл-6-фДГ, нмоль НАДФН/мин×мг белка
Печень	гомогенат	Здоровые крысы	0,858 ±0,012	1744,894 ±15,058	43,864 ±1,213	62,810 ±2,524	417,190 ±9,213
		КТТ, 10 суток	0,791 ±0,010*	1454,550 ±21,037*	35,087 ±1,126*	48,182 ±1,987*	288,033 ±8,093*
		КТТ+физ. р-р, 10сут.	0,789 ±0,012*	1452,318 ±18,145*	34,762 ±2,013*	48,003 ±2,117*	285,247 ±7,185*
		КТТ +ДНКЖ	1,293 ±0,028*/**	1779,755 ±27,203**	66,178 ±4,039*/**	59,560 ±3,428**	339,397 ±7,564*/**
		КТТ+NO	1,039 ±0,031*/**	1612,108 ±18,937*/**	79,943 ±3,821*/**	65,387 ±4,0126**	362,960 ±4,857*/**
		КТТ+СК	0,985 ±0,017*/**	1634,125 ±28,429*/**	45,869 ±2,703**	63,915 ±1,874**	405,967 ±6,092**
		КТТ+NO+ ДНКЖ	0,818 ±0,006**	1523,333 ±15,048*/**	41,897 ±3,562	59,308 ±5,007**	314,582 ±4,769*/**
	цитоплазматическая фракция	Здоровые крысы	0,699 ±0,006	1701,04 ±24,498	40,555 ±1,334	61,451 ±3,016	245,888 ±6,105
		КТТ, 10 суток	0,658 ±0,014*	1333,330 ±21,578*	33,910 ±1,574*	50,163 ±1,354*	165,882 ±6,692*
		КТТ+физ. р-р, 10сут.	0,655 ±0,012*	1329,785 ±18,629*	32,865 ±1,379*	49,782 ±1,195*	163,415 ±5,928*
		КТТ +ДНКЖ	0,726 ±0,015**	1898,798 ±30,125*/**	52,755 ±3,046*/**	69,408 ±3,137**	352,753 ±10,684*/**
		КТТ+ NO	0,866 ±0,023*/**	2100,454 ±25,043*/**	75,996 ±4,832*/**	60,349 ±1,038**	193,175 ±7,348*/**
		КТТ+СК	0,786 ±0,019*/**	1684,357 ±16,938**	38,964 ±3,702	55,498 ±2,136	194,530 ±6,276*/**
		КТТ+ NO +ДНКЖ	0,688 ±0,026	1726,687 ±26,792**	36,578 ±3,124	49,723 ±1,865*	203,125 ±12,984*/**
	митохондриальная фракция	Здоровые крысы	0,668 ±0,007	1577,134 ±28,831	19,025 ±1,011	9,554 ±0,554	177,235 ±3,994
		КТТ, 10 суток	0,630 ±0,012*	1300,00 ±34,093*	13,083 ±1,123*	4,352 ±0,119*	132,947 ±2,674*
		КТТ+физ. р-р, 10сут.	0,629 ±0,010*	1302,11 ±29,745*	12,957 ±1,038*	4,348 ±0,108*	130,865 ±3,092*
		КТТ +ДНКЖ	0,779 ±0,016*/**	1852,353 ±17,946*/**	36,598 ±1,094*/**	13,258 ±0,794*/**	303,843 ±9,672*/**
		КТТ+ NO	0,734 ±0,023*/**	2084,509 ±36,652*/**	93,751 ±4,085*/**	14,265 ±1,378*/**	174,930 ±5,862**
		КТТ+СК	0,672 ±0,011**	1428,63 ±25,367*/**	40,382 ±2,861*/**	10,017 ±0,564**	174,951 ±13,876**
		КТТ+ NO +ДНКЖ	0,599 ±0,015*	1025,364 ±14,851*/**	42,770 ±2,586*/**	11,233 ±1,046**	156,379 ±15,208**
Почки	гомогенат	Здоровые крысы	0,598 ±0,010	1342,058 ±40,356	29,783 ±2,042	74,704 ±3,006	545,675 ±8,093
		КТТ, 10 суток	0,509 ±0,012*	913,805 ±14,057*	19,661 ±0,875*	59,552 ±2,557*	251,523 ±5,052*
		КТТ+физ.	0,507	910,733	18,793	58,763	250,876

		р-р, 10сут.	±0,011 *	±12,865*	±0,665*	±1,925	±4,391*	
		КТТ +ДНКЖ	0,672 ±0,009*/**	1858,643 ±16,438*/**	48,190 ±4,032*/**	82,484 ±11,035**	344,170 ±6,152*/**	
		КТТ+ NO	0,797 ±0,024*/**	2068,087 ±31,274*/**	81,517 ±3,975*/**	183,067 ±12,589*/**	441,860 ±10,753*/**	
		КТТ+СК	0,603 ±0,018**	1106,948 ±12,953*/**	30,355 ±2,098**	68,594 ±3,782	538,167 ±15,294**	
		КТТ+ NO +ДНКЖ	0,546 ±0,023*	925,260 ±21,026*	23,748 ±3,006**	57,943 ±2,861*	296,873 ±11,545*/**	
	цитоплазм атическая фракция	Здоровые крысы	0,306 ±0,008	1014,833 ±12,538	29,638 ±1,017	45,213 ±1,031	241,975 ±6,607	
		КТТ, 10 сутки	0,216 ±0,017*	959,580 ±10,434*	19,380 ±0,678*	26,803 ±1,323*	133,347 ±3,869*	
		КТТ+физ. р-р, 10сут.	0,215 ±0,014*	960,027 ±9,854*	18,789 ±0,905*	25,926 ±1,187*	132,198 ±3,795*	
		КТТ +ДНКЖ	0,351 ±0,006*/**	1058,34 ±19,592**	25,863 ±1,321**	70,397 ±4,265*/**	412,253 ±9,786*/**	
		КТТ+ NO	0,571 ±0,012*/**	2144,930 ±38,537*/**	32,147 ±3,056**	82,833 ±3,974*/**	264,376 ±14,385**	
		КТТ+СК	0,428 ±0,007*/**	1024,637 ±27,475**	30,597 ±1,894**	50,412 ±1,678**	216,971 ±10,853**	
		КТТ+ NO +ДНКЖ	0,356 ±0,009*/**	1009,758 ±28,668	38,555 ±2,428*/**	68,280 ±13,174*/**	140,380 ±8,725*	
	митохонд риальная фракция	Здоровые крысы	0,436 ±0,013	932,174 ±30,021	24,015 ±2,004	37,072 ±2,004	345,672 ±9,038	
		КТТ, 10 сутки	0,301 ±0,011*	893,857 ±17,058	15,334 ±1,067*	23,996 ±1,044*	205,530 ±6,642*	
		КТТ+физ. р-р, 10сут.	0,299 ±0,012*	891,946 ±16,723	15,026 ±1,185*	22,877 ±1,516*	204,966 ±7,035*	
		КТТ +ДНКЖ	0,507 ±0,010*/**	1086,883 ±42,064*/**	22,868 ±1,754**	57,867 ±6,234*/**	493,590 ±12,678*/**	
		КТТ+ NO	0,788 ±0,022*/**	1936,806 ±26,372*/**	22,065 ±2,037**	36,305 ±3,128**	255,782 ±14,653*/**	
		КТТ+СК	0,387 ±0,010*/**	915,687 ±18,456	19,537 ±1,649**	27,865 ±2,095*	318,671 ±15,426**	
		КТТ+ NO +ДНКЖ	0,354 ±0,008*/**	1082,830 ±21,037*/**	35,133 ±3,128*/**	53,588 ±3,624*/**	199,673 ±8,542*	
Сердце	гомогенат	Здоровые крысы	0,329 ±0,006	1627,293 ±43,658	22,612 ±1,231	55,078 ±3,301	344,465 ±7,012	
		КТТ, 10 сутки	0,180 ±0,007*	780,439 ±16,325*	16,621 ±0,564*	53,267 ±2,058	261,029 ±5,386*	
		КТТ+физ. р-р, 10сут.	0,179 ±0,008*	778,925 ±17,413*	16,572 ±0,493*	53,114 ±1,987	260,735 ±4,896*	
		КТТ +ДНКЖ	0,333 ±0,013**	1752,694 ±23,748*/**	40,703 ±1,982*/**	104,788 ±9,034*/**	298,637 ±12,454**	
		КТТ+ NO	0,354 ±0,015**	1417,406 ±33,506*/**	34,680 ±1,057*/**	83,258 ±2,974*/**	325,769 ±13,481**	
		КТТ+СК	0,333 ±0,009**	1587,643 ±21,645**	25,967 ±2,008**	65,384 ±3,007*/**	314,805 ±12,976**	
		КТТ+ NO +ДНКЖ	0,259 ±0,011*/**	1353,358 ±34,731*/**	18,649 ±1,794	96,463 ±5,275*/**	340,226 ±10,358**	
		цитоплазм атическая фракция	Здоровые крысы	0,294 ±0,006	1345,507 ±33,754	15,261 ±1,120	42,825 ±1,996	234,675 ±4,557
			КТТ, 10 сутки	0,163 ±0,013*	795,274 ±23,065*	12,283 ±0,983*	46,446 ±2,056	132,676 ±5,117*
			КТТ+физ. р-р, 10сут.	0,161 ±0,014*	793,892 ±25,007*	12,195 ±0,768*	47,023 ±2,756	130,984 ±6,027*
			КТТ +ДНКЖ	0,366 ±0,015*/**	3148,150 ±46,839*/**	18,730 ±0,699**	91,222 ±7,583*/**	175,360 ±3,849*/**
			КТТ+ NO	0,323 ±0,012*/**	1844,019 ±27,392*/**	38,556 ±2,473*/**	73,418 ±2,659*/**	221,069 ±4,058**

		КТТ+СК	0,316 ±0,009**	1428,64 ±18,475*/**	30,276 ±1,894*/**	68,963 ±7,012*/**	197,638 ±6,405*/**	
		КТТ+ NO +ДНКЖ	0,195 ±0,007*/**	1057,967 ±38,593*/**	29,980 ±2,073*/**	90,691 ±9,782*/**	215,447 ±11,006**	
	митохондриальная фракция	Здоровые крысы	0,224 ±0,021	1574,752 ±27,859	11,174 ±0,907	26,613 ±1,018	195,283 ±4,896	
		КТТ, 10 сутки	0,105 ±0,011*	1093,222 ±32,439*	6,688 ±0,287*	19,449 ±1,054*	109,573 ±3,704*	
		КТТ+физ. р-р, 10сут.	0,103 ±0,012*	1090,634 ±29,879*	6,690 ±0,195*	18,695 ±1,032*	110,208 ±4,035*	
		КТТ +ДНКЖ	0,345 ±0,020*/**	1818,18 ±16,493*/**	13,260 ±0,694**	26,573 ±2,094**	139,697 ±8,542*/**	
		КТТ+ NO	0,256 ±0,016**	1838,896 ±35,274*/**	19,744 ±1,658*/**	31,557 ±0,869*/**	289,570 ±5,641*/**	
		КТТ+СК	0,207 ±0,010**	1234,860 ±27,352*/**	10,186 ±0,793**	24,283 ±2,795	167,853 ±5,249*/**	
		КТТ+ NO +ДНКЖ	0,195 ±0,008**	1371,054 ±28,036*/**	7,638 ±0,592*	24,736 ±2,085**	114,952 ±4,863*	
легкие		гомогенат	Здоровые крысы	0,286 ±0,016	875,012 ±12,786	23,917 ±1,046	49,230 ±2,012	140,655 ±5,025
			КТТ, 10 сутки	0,214 ±0,014*	651,333 ±21,831*	17,154 ±1,003*	43,344 ±0,905*	98,230 ±3,004*
	КТТ+физ. р-р, 10сут.		0,215 ±0,013*	649,865 ±20,973*	17,362 ±0,974*	42,768 ±0,895*	97,846 ±2,953*	
	КТТ +ДНКЖ		0,332 ±0,022**	998,228 ±17,399*/**	28,435 ±2,167**	120,597 ±11,684*/**	137,310 ±3,285**	
	КТТ+ NO		0,461 ±0,025*/**	2227,594 ±35,185*/**	30,604 ±2,058*/**	180,134 ±9,752*/**	115,561 ±4,724*/**	
	КТТ+СК		0,297 ±0,015**	897,344 ±21,052**	22,674 ±2,035**	54,690 ±1,387**	139,652 ±3,874**	
	КТТ+ NO +ДНКЖ		0,255 ±0,013**	1107,185 ±16,902*/**	19,820 ±1,653	84,790 ±2,135*/**	112,357 ±10,298*	
	цитоплазматическая фракция	Здоровые крысы	0,219 ±0,015	739,970 ±19,279	18,907 ±0,996	28,315 ±1,001	102,380 ±3,121	
		КТТ, 10 сутки	0,153 ±0,013*	652,670 ±22,063*	15,920 ±0,453*	18,933 ±1,210*	62,781 ±1,665*	
		КТТ+физ. р-р, 10сут.	0,151 ±0,014*	649,985 ±23,007*	16,005 ±0,279*	18,872 ±1,305*	60,995 ±1,726*	
		КТТ +ДНКЖ	0,253 ±0,024**	1636,360 ±40,278*/**	42,360 ±2,785*/**	109,405 ±5,368*/**	181,703 ±5,204*/**	
		КТТ+ NO	0,487 ±0,031*/**	1242,334 ±31,568*/**	32,146 ±3,079*/**	98,870 ±3,594*/**	172,720 ±4,869*/**	
		КТТ+СК	0,248 ±0,016**	715,864 ±14,907**	22,158 ±1,695**	56,734 ±4,102*/**	110,638 ±7,245**	
		КТТ+ NO +ДНКЖ	0,193 ±0,007**	707,710 ±13,004**	40,630 ±3,124*/**	97,385 ±4,621*/**	84,531 ±3,876*/**	
	митохондриальная фракция	Здоровые крысы	0,221 ±0,016	814,027 ±12,334	16,917 ±0,352	23,133 ±1,204	35,855 ±2,105	
		КТТ, 10 сутки	0,186 ±0,018	598,723 ±30,054*	11,817 ±0,113*	21,143 ±1,115	18,115 ±1,023*	
		КТТ+физ. р-р, 10сут.	0,185 ±0,019	599,016 ±29,874*	11,534 ±0,211*	20,986 ±1,223	17,986 ±1,105*	
		КТТ +ДНКЖ	0,537 ±0,035*/**	1750,00 ±29,596*/**	13,260 ±0,574*	59,927 ±4,038*/**	52,170 ±2,483*/**	
		КТТ+ NO	0,697 ±0,026*/**	1746,954 ±37,813*/**	12,267 ±1,853*	30,349 ±2,156*/**	39,110 ±2,045**	
		КТТ+СК	0,196 ±0,008	963,875 ±20,142*/**	15,837 ±0,942**	22,967 ±1,058	33,761 ±3,004**	
		КТТ+ NO +ДНКЖ	0,191 ±0,011	1252,120 ±28,731*/**	17,175 ±2,038**	22,964 ±2,037	28,643 ±2,117**	

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ).

Активность СОД возросла при КТТ в субклеточных фракциях печени после ингаляций NO, СК, ДНКЖ-терапии, почек – под влиянием иNO, ДНКЖ, сердца и легких – под воздействием ингаляций NO, ДНКЖ-терапии, СК, совместно ДНКЖ и иNO по сравнению с показателями крыс с КТТ без лечения, нормализовавшись под влиянием ДНКЖ в гомогенате печени, цитоплазме почек, СК – в цитоплазме печени, цитоплазме и митохондриях почек, гомогенате сердца, гомогенате и цитозоле легких, совместного применения ДНКЖ и иNO – в цитоплазме печени, почек и легких (табл. 80).

Отмечено повышение активности каталазы при КТТ в гомогенате, цитозоле, митохондриях печени после ингаляций NO в 2,3 раза ( $p < 0,001$ ), в 2,2 раза ( $p < 0,001$ ), в 7,2 раза ( $p < 0,001$ ), ДНКЖ-терапии – на 88,61% ( $p = 0,002$ ), 55,57% ( $p = 0,019$ ), в 2,8 раза ( $p < 0,001$ ), в субклеточных фракциях почек под влиянием ингаляций NO, СК, ДНКЖ, совместно ДНКЖ и иNO, в гомогенате, цитозоле, митохондриях сердца после ингаляций NO – в 2,1 раза ( $p < 0,001$ ), в 3,1 раза ( $p < 0,001$ ), в 2,9 раза ( $p < 0,001$ ), ДНКЖ-терапии – в 2,5 раза ( $p < 0,001$ ), на 52,49% ( $p = 0,020$ ), 98,27% ( $p = 0,007$ ), ингаляций СК – на 56,23% ( $p = 0,014$ ), в 2,5 раза ( $p < 0,001$ ), на 52,30% ( $p = 0,017$ ), гомогенате, цитозоле и митохондриях легких под воздействием СК – на 32,18% ( $p = 0,019$ ), 39,18% ( $p = 0,016$ ), 34,02% ( $p = 0,020$ ) по сравнению с показателями крыс с КТТ без лечения, которая нормализовалась после ингаляций СК в гомогенате и цитозоле печени, всех субклеточных фракциях почек и легких, гомогенате и митохондриях сердца, ингаляций NO – в цитозоле и митохондриях почек, совместно ДНКЖ и иNO – в гомогенате, цитозоле печени, гомогенате почек и сердца, гомогенате, митохондриях легких, ДНКЖ-терапии – в цитозоле и митохондриях почек и сердца, гомогенате легких. В субклеточных фракциях почек ДНКЖ и иNO оказали одинаковый эффект на активность каталазы, наиболее выраженный активирующий эффект на активность каталазы почек при КТТ имело совместное применение ДНКЖ и иNO.

Активность ГР и Гл-6-фДГ возросла при КТТ в субклеточных фракциях печени, почек, сердца, легких после ингаляций NO, СК, ДНКЖ-терапии, совместно ДНКЖ и иNO по сравнению с показателями крыс с КТТ без лечения. Активность ГР нормализовалась после ингаляций NO в гомогенате и цитоплазме печени, митохондриях почек, ДНКЖ-терапии – в гомогенате и цитоплазме печени, гомогенате почек, митохондриях сердца, СК – во всех субклеточных фракциях печени, гомогенате и цитоплазме почек, митохондриях сердца, гомогенате и митохондриях легких, после совместного применения ДНКЖ и иNO – в гомогенате и митохондриях печени, митохондриях сердца и легких. Активность Гл-6-фДГ при КТТ нормализовалась после ингаляций NO в митохондриях печени и легких, цитоплазме почек, гомогенате и цитоплазме сердца, СК – в гомогенате и митохондриях печени, гомогенате сердца, всех субклеточных фракциях почек и легких, ДНКЖ – в гомогенате легких, совместного применения ДНКЖ и иNO – в митохондриях печени и легких, гомогенате и цитоплазме сердца. По сравнению с показателями здоровых крыс отмечено активирующее влияние на активность ГР ингаляций NO в гомогенате, цитоплазме и митохондриях сердца и легких, ДНКЖ-терапии – в гомогенате и цитоплазме сердца, субклеточных фракциях легких, СК – в гомогенате и цитозоле сердца, цитоплазме легких, совместного применения депонированного и газообразного NO – в гомогенате и цитозоле сердца и легких. Наблюдалось активирующее влияние на активность Гл-6-фДГ по сравнению с показателями здоровых крыс ингаляций NO в митохондриях сердца, ДНКЖ-терапии – в цитозоле и митохондриях печени, почек, легких. Повышение активности Гл-6-фДГ под влиянием АФК можно считать показателем активизации ПФП как компенсационного механизма при угасании гликолиза, протекающего по пути Эмбдена-Мейергофа.

Изменения активности оксидоредуктаз в органах крыс после воздействия АФК при КТТ обусловлены изменениями их кинетических параметров. По сравнению с кинетическими показателями СОД при КТТ без

лечения показано уменьшение Kt и рост Vmax, Vmax/Kt в гомогенате, цитоплазме, митохондриях печени, легких крыс с КТТ после ингаляций NO, СК, ДНКЖ-терапии, гомогенате и цитоплазме печени, митохондриях почек – после ингаляций NO с ДНКЖ, гомогенате и митохондриях почек – после ингаляций NO, ДНКЖ-терапии при КТТ, митохондриях сердца – после ингаляций NO, совместно иNO и ДНКЖ, цитозоле и митохондриях сердца – после ДНКЖ-терапии, цитозоле сердца – после ингаляции СК; повышение Vmax, Vmax/Kt в гомогенате, цитозоле, митохондриях почек, гомогенате и митохондриях сердца после ингаляций СК, цитозоле почек – после совместного применения ДНКЖ и иNO, гомогенате, цитозоле сердца – после иNO, совместно иNO с ДНКЖ, гомогенате сердца – после ДНКЖ (табл. 81).

Таблица 81

Кинетические показатели супероксиддисмутазы в субклеточных фракциях органов крыс с комбинированной термической травмой после воздействия АФК и АФА

Орган	Субклеточная фракция	Кинетический показатель	здоровые животные	животные с КТТ				
				10 сутки	+NO	+ДНКЖ	+СК	+NO +ДНКЖ
Печень	Гомогенат	Kt, мин	3,45 ±0,11	6,72±0,24 *	4,89±0,12 */**	3,39±0,19 **	5,06±0,13 */**	5,14±0,24 */**
		Vmax, мкмоль/мин	12,63 ±0,17	8,86±0,13 *	11,03±0,25 */**	11,57±0,48 */**	10,85±0,76 */**	10,26±0,58 */**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	3,66 ±0,07	1,32±0,08 *	2,26±0,09 */**	3,41±0,20 **	2,14±0,09 */**	1,99±0,07 */**
	Цитоплазма	Kt, мин	5,62 ±0,13	11,01±0,35 *	4,38±0,11 */**	5,10±0,16 */**	5,58±0,14 **	5,60±0,23 **
		Vmax, мкмоль/мин	14,97 ±0,24	9,67±0,17 *	13,95±1,24 **	14,23±0,87 **	13,74±1,05 **	12,38±0,76 */**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	2,66 ±0,08	0,88±0,09 *	3,18±0,15 */**	2,79±0,08 **	2,46±0,12 **	2,21±0,08 **
	Митохондрии	Kt, мин	7,63 ±0,10	14,67±0,32 *	6,54±0,33 */**	7,13±0,12 */**	10,58±0,88 */**	14,25±1,13 *
		Vmax, мкмоль/мин	15,08 ±0,26	9,68±0,25 *	15,38±0,97 **	15,24±0,69 **	14,36±1,11 **	9,18±0,27 *
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	1,98 ±0,05	0,66±0,07*	2,35±0,14 */**	2,14±0,10 **	1,36±0,09 */**	0,64±0,03 *
Почки	Гомогенат	Kt, мин	1,96 ±0,03	2,01±0,14	1,16±0,05 */**	1,25±0,06 */**	1,84±0,07	1,89±0,10
		Vmax, мкмоль/мин	8,69 ±0,14	4,36±0,28 *	9,14±0,16 */**	8,03±0,19 */**	9,20±0,19 */**	4,27±0,22 *
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	5,43 ±0,11	2,17±0,15*	7,88±0,27 */**	6,42±0,15 */**	5,00±0,15 */**	2,26±0,13 *
	Цитоплазма	Kt, мин	1,24 ±0,06	1,19±0,08	0,99±0,08 *	1,18±0,07	1,30±0,09	1,23±0,08
		Vmax, мкмоль/мин	7,43 ±0,12	2,36±0,10 *	7,25±0,14 **	7,26±0,23 **	8,01±0,18 */**	5,87±0,19 */**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	5,99 ±0,27	1,98±0,24 *	7,32±0,21 */**	6,15±0,17 **	6,16±0,13 **	4,77±0,23 */**
	Митохондрии	Kt, мин	1,47 ±0,06	1,47±0,11	1,12±0,06 */**	0,98±0,06 */**	1,50±0,04	0,87±0,06 */**

		V <sub>max</sub> , МКМОЛЬ/МИН	6,84 ±0,23	3,65±0,21 *	6,77±0,17 **	7,03±0,12 **	5,64±0,20 */**	6,53±0,21 **
		V <sub>max</sub> /Kt, МКМОЛЬ/МИН <sup>2</sup>	4,65 ±0,14	2,48±0,09 *	6,04±0,20 */**	7,17±0,14 */**	3,76±0,12 */**	7,51±0,14 */**
Сердце	Гомогенат	Kt, мин	2,15 ±0,11	2,13±0,11	2,05±0,05	1,85±0,14	2,11±0,09	2,08±0,06
		V <sub>max</sub> , МКМОЛЬ/МИН	10,66 ±0,33	5,99±0,32 *	9,37±0,24 */**	11,02±0,36 **	9,86±0,23 */**	8,97±0,24 */**
		V <sub>max</sub> /Kt, МКМОЛЬ/МИН <sup>2</sup>	4,96 ±0,13	2,81±0,16*	4,57±0,18 **	5,96±0,22 */**	4,67±0,17 **	4,31±0,11 */**
	Цитоплазма	Kt, мин	1,98 ±0,07	1,95±0,08	1,75±0,12	1,52±0,07 */**	1,38±0,06 */**	1,86±0,07
		V <sub>max</sub> , МКМОЛЬ/МИН	8,48 ±0,31	5,67±0,21 *	9,02±0,34 **	8,54±0,16 **	8,79±0,14 **	7,53±0,20 */**
		V <sub>max</sub> /Kt, МКМОЛЬ/МИН <sup>2</sup>	4,28 ±0,15	2,91±0,17 *	5,15±0,13 */**	5,62±0,10 */**	6,37±0,20 */**	4,05±0,09 **
	Митохондрии	Kt, мин	2,06 ±0,12	2,05±0,09	1,56±0,09 */**	1,47±0,08 */**	1,88±0,06	1,73±0,05 **
		V <sub>max</sub> , МКМОЛЬ/МИН	7,25 ±0,21	3,67±0,10 *	7,14±0,11 **	7,31±0,20 **	6,59±0,14 */**	5,94±0,13 */**
		V <sub>max</sub> /Kt, МКМОЛЬ/МИН <sup>2</sup>	3,52 ±0,23	1,79±0,12 *	4,58±0,09 */**	4,97±0,15 */**	3,51±0,11 **	3,43±0,12 **
легкие	Гомогенат	Kt, мин	1,14 ±0,09	2,21±0,09 *	0,74±0,06 */**	0,83±0,04 */**	1,09±0,07 **	0,92±0,03 **
		V <sub>max</sub> , МКМОЛЬ/МИН	9,44 ±0,10	5,33±0,11 *	10,03±0,15 */**	9,97±0,25 */**	9,58±0,18 **	10,26±0,22 */**
		V <sub>max</sub> /Kt, МКМОЛЬ/МИН <sup>2</sup>	8,28 ±0,11	2,41±0,08 *	13,55±1,12 */**	12,01±0,36 */**	8,79±0,25 **	11,15±0,34 */**
	Цитоплазма	Kt, мин	0,87 ±0,04	1,73±0,09 *	0,54±0,03 */**	0,63±0,04 */**	0,90±0,05 **	0,92±0,03 **
		V <sub>max</sub> , МКМОЛЬ/МИН	8,37 ±0,12	5,15±0,14* **	8,66±0,21 **	9,12±0,11 */**	8,54±0,20 **	8,48±0,15 **
		V <sub>max</sub> /Kt, МКМОЛЬ/МИН <sup>2</sup>	9,62 ±0,20	2,98±0,21 *	16,04±0,15 */**	14,48±0,37 */**	9,49±0,31 **	9,22±0,27 **
	Митохондрии	Kt, мин	0,63 ±0,05	1,75±0,12 *	0,42±0,02 */**	0,38±0,02 */**	0,50±0,02 **	0,47±0,03 **
		V <sub>max</sub> , МКМОЛЬ/МИН	8,02 ±0,09	3,88±0,11 *	7,85±0,21 **	8,11±0,17 **	7,92±0,18 **	7,68±0,30 **
		V <sub>max</sub> /Kt, МКМОЛЬ/МИН <sup>2</sup>	12,73 ±0,17	2,22±0,16 *	18,69±0,53 */**	21,34±1,52 */**	15,84±1,73 */**	16,34±0,17 */**

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами (p<0,05); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ (p<0,05).

Для СОД отмечена нормализация V<sub>max</sub> в цитоплазме и митохондриях печени, почек, легких, митохондриях сердца, Kt и V<sub>max</sub>/Kt в гомогенате сердца, Kt и V<sub>max</sub> в цитозоле сердца после ингаляций NO; V<sub>max</sub> и V<sub>max</sub>/Kt – в митохондриях печени, Kt, V<sub>max</sub> и V<sub>max</sub>/Kt – в цитоплазме почек, V<sub>max</sub> – в митохондриях почек, легких, цитоплазме и митохондриях сердца, Kt и V<sub>max</sub> – в гомогенате сердца после ДНКЖ-терапии; Kt, V<sub>max</sub>, V<sub>max</sub>/Kt – в цитозоле печени, легких, V<sub>max</sub> – в митохондриях печени, цитозоле сердца, Kt – в гомогенате и митохондриях почек, Kt и V<sub>max</sub>/Kt – в цитоплазме почек, гомогенате и митохондриях сердца, Kt и V<sub>max</sub> – в митохондриях легких после ингаляций СК; Kt и V<sub>max</sub>/Kt – в цитоплазме печени, цитоплазме и

митохондриях сердца, Kt – в гомогенате почек, легких и сердца, Kt и Vmax – в митохондриях почек и легких, Kt, Vmax/Kt и Vmax – в цитозоле легких после ингаляций NO и введения ДНКЖ (табл. 81).

Для каталазы Kt, Vmax уменьшились, Vmax/Kt увеличилась в гомогенате, цитозоле печени крыс с КТТ после ингаляций NO и ДНКЖ-терапии, цитозоле печени – ингаляции СК, совместно иNO и ДНКЖ, гомогенате, цитозоле почек, легких – ДНКЖ-терапии, гомогенате легких – ингаляций NO; Kt уменьшилось, Vmax/Kt увеличилась в митохондриях печени после ингаляций NO и ДНКЖ-терапии, гомогенате, митохондриях печени, гомогенате, цитозоле, митохондриях легких – ингаляции СК, совместно иNO и ДНКЖ у крыс с КТТ, гомогенате, цитозоле, митохондриях почек – ингаляций NO, СК, совместно иNO и ДНКЖ, митохондриях почек, гомогенате легких – ДНКЖ-терапии, гомогенате, цитоплазме, митохондриях сердца – ингаляций NO, СК, ДНКЖ-терапии крыс с КТТ, гомогенате, цитозоле сердца – совместно иNO с ДНКЖ, цитозоле легких – после ингаляций NO по сравнению с кинетическими показателями каталазы животных с КТТ без лечения (табл. 82).

Таблица 82

Кинетические показатели каталазы в субклеточных фракциях органов крыс с комбинированной термической травмой после воздействия АФК и АФА

Орган	Субклеточная фракция	Кинетический показатель	здоровые животные	животные с КТТ				
				10 сутки	+NO	+ДНКЖ	+СК	+NO +ДНКЖ
Печень	Гомогенат	Kt, мин	0,86±0,05	1,87±0,04*	0,54±0,02 */**	0,62±0,03 */**	0,80±0,03 **	0,83±0,04 **
		Vmax, мкмоль/мин	7,94±0,03	7,95±0,11	6,85±0,14 */**	7,14±0,09 */**	7,89±0,15	8,01±0,14
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	9,23±0,04	4,25±0,07*	12,69±0,58 */**	11,52±1,14 */**	9,86±0,25 */**	9,65±0,21 */**
	Цитоплазма	Kt, мин	0,64±0,02	1,21±0,03*	0,41±0,02 */**	0,38±0,03 */**	0,60±0,04 **	0,59±0,02 **
		Vmax, мкмоль/мин	7,03±0,06	7,06±0,08	6,57±0,20 */**	6,49±0,22 */**	6,54±0,13 */**	6,72±0,11 */**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	10,98±0,08	5,83±0,07*	16,02±1,13 */**	17,08±1,14 */**	10,90±0,51 **	11,39±0,25 **
	Митохондрии	Kt, мин	0,67±0,02	1,08±0,09*	0,34±0,03 */**	0,47±0,03 */**	0,50±0,02 */**	0,32±0,02 */**
		Vmax, мкмоль/мин	6,69±0,08	6,63±0,12	6,51±0,17	6,28±0,17 *	6,33±0,11 *	6,45±0,13
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	9,99±0,05	6,14±0,08*	19,15±1,84 */**	13,36±1,05 */**	12,66±0,93 */**	20,16±0,34 */**
Почки	Гомогенат	Kt, мин	0,59±0,01	1,63±0,09*	0,34±0,02 */**	0,28±0,04 */**	0,63±0,02 **	0,55±0,01 **

		Vmax, мкмоль/мин	8,99±0,07	8,97 ±0,17	8,52±0,18 *	8,37±0,24 */**	9,04±0,18	8,76±0,23	
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	15,24±0,10	5,50 ±0,21*	25,06±2,31 */**	29,89±2,37 */**	14,35±1,24 **	15,93±1,14 **	
		Цитоплазма	Kt, мин	0,48±0,02	1,56 ±0,08*	0,50±0,02 **	0,42±0,03 **	0,56±0,04 **	0,25±0,01 */**
			Vmax, мкмоль/мин	7,36±0,08	7,35 ±0,12	7,28±0,25	6,95±0,19 */**	7,40±0,31	7,13±0,09
			Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	15,33±0,10	4,71 ±0,14*	14,56±1,45 **	16,55±1,46 **	13,21±0,68 */**	28,52±2,47 */**
			Митохондрии	Kt, мин	0,52±0,07	1,48 ±0,05*	0,50±0,03 **	0,63±0,05 **	0,49±0,01 **
			Vmax, мкмоль/мин	6,58±0,22	6,55 ±0,13	6,47±0,18	6,60±0,14	6,51±0,19	6,26±0,18
			Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	12,65±0,88	4,43 ±0,12*	12,94±1,35 **	10,48±0,62 */**	13,29±1,06 **	18,41±2,22 */**
			Сердце	Гомогенат	Kt, мин	0,46±0,04	1,08 ±0,05*	0,21±0,01 */**	0,33±0,03 **
		Vmax, мкмоль/мин	10,42±0,76	5,13 ±0,08*	9,85±0,34 **	10,14±0,09 **	10,29±0,21 **	8,34±0,15 */**	
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	22,65±1,02	4,75 ±0,15*	46,91±2,68 */**	30,73±2,14 */**	25,09±1,57 **	16,04±0,62 */**	
		Цитоплазма	Kt, мин	0,49±0,03	0,65 ±0,02*	0,29±0,02 */**	0,50±0,03 **	0,30±0,02 */**	0,25±0,03 */**
		Vmax, мкмоль/мин	7,40±0,18	4,02 ±0,09*	6,43±0,15 */**	7,34±0,12 **	7,22±0,20 **	6,83±0,17 */**	
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	15,10±0,76	6,18 ±0,13*	22,17±1,23 */**	14,68±1,35 **	24,07±1,46 */**	27,32±1,28 */**	
		Митохондрии	Kt, мин	0,50±0,02	1,50 ±0,07*	0,26±0,03 */**	0,45±0,02 **	0,49±0,03 **	1,38±0,06 *
		Vmax, мкмоль/мин	8,45±0,32	5,32 ±0,21*	7,84±0,17 **	8,27±0,15 **	8,38±0,11 **	5,04±0,09 *	
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	16,90±0,57	3,55 ±0,10*	30,15±1,85 */**	18,38±2,09 **	19,10±1,08 */**	3,65±0,05 *	
		Легкие	Гомогенат	Kt, мин	0,62±0,05	1,11 ±0,04*	0,36±0,04 */**	0,60±0,02 **	0,72±0,05 **
		Vmax, мкмоль/мин	5,44±0,20	5,46 ±0,13	4,97±0,22 **	5,38±0,15	5,54±0,10	5,67±0,12	
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	8,77±0,13	4,92 ±0,10*	13,81±0,96 */**	8,97±0,24 **	7,69±0,13 */**	6,67±0,18 */**	
		Цитоплазма	Kt, мин	0,53±0,02	1,05 ±0,08*	0,24±0,02 */**	0,33±0,03 */**	0,49±0,02 **	0,28±0,01 */**
		Vmax, мкмоль/мин	5,26±0,10	5,27 ±0,13	4,97±0,15	4,86±0,13 */**	5,12±0,09	5,04±0,07	
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	9,93±0,18	5,02 ±0,06*	20,71±1,34 */**	14,73±0,95 */**	10,45±0,33 **	18,01±0,69 */**	
		Митохондрии	Kt, мин	0,38±0,03	0,89 ±0,07*	0,85±0,05 *	0,78±0,05 *	0,40±0,03 **	0,29±0,02 **
		Vmax, мкмоль/мин	4,27±0,11	4,29 ±0,14	4,40±0,09	3,69±0,12 */**	4,33±0,08	4,15±0,08	
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	11,24±0,08	4,82 ±0,11*	5,18±0,12 *	4,73±0,19 *	10,83±0,96 **	14,31±1,17 */**	

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами (p<0,05); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ (p<0,05).

В печени для каталазы отмечена нормализация Vmax в митохондриях после ингаляций NO, совместного применения иNO с ДНКЖ, Kt и Vmax в гомогенате и Kt, Vmax/Kt в цитозоле после ингаляций СК, совместного

применения иNO с ДНКЖ. В почках для каталазы наблюдалась нормализация  $K_t$ ,  $V_{max}$  и  $V_{max}/K_t$  в цитозоле, митохондриях после ингаляций NO,  $K_t$  и  $V_{max}/K_t$  в цитозоле,  $K_t$  и  $V_{max}$  в митохондриях после ДНКЖ-терапии,  $K_t$ ,  $V_{max}$  и  $V_{max}/K_t$  в гомогенате и митохондриях,  $K_t$  и  $V_{max}$  – в цитозоле после ингаляции СК,  $K_t$ ,  $V_{max}$  и  $V_{max}/K_t$  в гомогенате,  $V_{max}$  – в цитозоле и митохондриях после совместных ингаляций NO и ДНКЖ. Для каталазы в сердце нормализовались: после ингаляций NO –  $V_{max}$  в гомогенате, митохондриях, ДНКЖ-терапии –  $K_t$  и  $V_{max}$  в гомогенате,  $K_t$ ,  $V_{max}$  и  $V_{max}/K_t$  в цитозоле, митохондриях, ингаляций СК –  $K_t$ ,  $V_{max}$  и  $V_{max}/K_t$  в гомогенате,  $V_{max}$  в цитозоле,  $K_t$  и  $V_{max}$  в митохондриях, совместного применения иNO и ДНКЖ –  $K_t$  в гомогенате. В легких для каталазы нормализовались: после ингаляций NO –  $V_{max}$  в гомогенате, цитозоле, митохондриях, ДНКЖ-терапии –  $K_t$ ,  $V_{max}$  и  $V_{max}/K_t$  в гомогенате, ингаляций СК –  $K_t$  и  $V_{max}$  в гомогенате,  $K_t$ ,  $V_{max}$ ,  $V_{max}/K_t$  в цитозоле, митохондриях, совместных ингаляций NO с ДНКЖ –  $V_{max}$  в гомогенате,  $K_t$  и  $V_{max}$  в митохондриях (табл. 82).

По сравнению с кинетическими показателями ГР животных с КТТ без лечения для ГР  $K_t$  уменьшилось,  $V_{max}$ ,  $V_{max}/K_t$  возросли в гомогенате, цитозоле, митохондриях печени после ингаляций NO, СК, ДНКЖ-терапии при КТТ, гомогенате, митохондриях печени – после совместных ингаляций NO с ДНКЖ; в почках после ингаляций NO в гомогенате, цитозоле  $K_t$  уменьшилось,  $V_{max}$ ,  $V_{max}/K_t$  возросли, митохондриях –  $V_{max}$ ,  $V_{max}/K_t$  возросли, после ДНКЖ-терапии в гомогенате почек  $V_{max}$ ,  $V_{max}/K_t$  увеличились, в цитозоле, митохондриях  $K_t$  снизилось,  $V_{max}$ ,  $V_{max}/K_t$  возросли, после ингаляций СК в гомогенате, цитозоле  $V_{max}$  и  $V_{max}/K_t$  повысились, после совместного использования иNO с ДНКЖ в гомогенате  $V_{max}$  повысилась, в цитозоле, митохондриях  $K_t$  снизилось,  $V_{max}$  и  $V_{max}/K_t$  возросли; в гомогенате, цитозоле, митохондриях сердца и легких после ингаляций NO, СК, ДНКЖ-терапии, совместно иNO с ДНКЖ у крыс с КТТ  $K_t$  уменьшилось,  $V_{max}$ ,  $V_{max}/K_t$  возросли (табл. 83).

Кинетические показатели глутатионредуктазы в субклеточных фракциях органов крыс с комбинированной термической травмой после воздействия АФК и АФА

Орган	Субклеточная фракция	Кинетический показатель	здоровые животные	животные с КТТ				
				10 сутки	+NO	+ДНКЖ	+СК	+NO +ДНКЖ
Печень	Гомогенат	Кт, мин	2,16±0,08	4,13±0,10*	2,21±0,09**	2,08±0,07**	1,98±0,06**	2,13±0,07**
		V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	10,36±0,13	5,02±0,09*	10,40±0,21**	11,02±0,12*/**	9,76±0,11*/**	10,54±0,23**
		V <sub>max</sub> /Кт, мкмоль/мин <sup>2</sup>	4,79±0,10	1,22±0,06*	4,71±0,13**	5,30±0,10*/**	4,93±0,10**	4,95±0,16**
	Цитоплазма	Кт, мин	1,96±0,07	3,84±0,21*	2,03±0,08**	1,85±0,14**	2,14±0,09**	3,56±0,12*
		V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	8,42±0,11	4,32±0,07*	8,37±0,17**	8,50±0,23**	8,37±0,20**	5,07±0,15*/**
		V <sub>max</sub> /Кт, мкмоль/мин <sup>2</sup>	4,29±0,14	1,13±0,04*	4,12±0,10**	4,60±0,09**	3,91±0,30*/**	1,42±0,08*/**
	Митохондрии	Кт, мин	1,64±0,06	3,18±0,10*	1,23±0,07*/**	1,18±0,07*/**	1,72±0,07**	1,59±0,11**
		V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	8,26±0,15	3,84±0,13*	7,54±0,15*/**	7,66±0,21*/**	8,33±0,15**	8,16±0,13**
		V <sub>max</sub> /Кт, мкмоль/мин <sup>2</sup>	5,04±0,09	1,21±0,08*	6,13±0,08*/**	6,49±0,30*/**	4,84±0,12**	5,13±0,11**
Почки	Гомогенат	Кт, мин	3,06±0,05	3,00±0,07	2,56±0,05*/**	3,10±0,09	2,95±0,09	3,12±0,09
		V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	11,04±0,07	6,47±0,16*	10,27±0,23*/**	10,96±0,54**	10,76±0,35**	7,05±0,15*/**
		V <sub>max</sub> /Кт, мкмоль/мин <sup>2</sup>	3,61±0,11	2,16±0,02*	4,01±0,06*/**	3,54±0,13**	3,65±0,10**	2,26±0,06*
	Цитоплазма	Кт, мин	2,52±0,06	2,55±0,05	1,97±0,04*/**	1,85±0,08*/**	2,48±0,08	2,14±0,08*/**
		V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	9,43±0,22	4,90±0,07*	8,86±0,12*/**	8,92±0,27**	9,36±0,13**	9,27±0,25**
		V <sub>max</sub> /Кт, мкмоль/мин <sup>2</sup>	3,74±0,12	1,92±0,07*	4,50±0,06*/**	4,82±0,10*/**	3,77±0,09**	4,33±0,10*/**
	Митохондрии	Кт, мин	1,73±0,05	1,77±0,07	1,69±0,07	1,33±0,09*/**	1,81±0,07	1,26±0,07*/**
		V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	10,65±0,27	5,88±0,13*	10,34±0,22**	10,24±0,15**	6,23±0,11*	9,85±0,14*/**
		V <sub>max</sub> /Кт, мкмоль/мин <sup>2</sup>	6,16±0,14	3,32±0,11*	6,12±0,10**	7,70±0,14*/**	3,44±0,08*	7,82±0,20*/**
Сердце	Гомогенат	Кт, мин	1,90±0,09	4,85±0,14*	1,27±0,08*/**	1,36±0,06*/**	1,40±0,05*/**	1,28±0,07*/**
		V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	12,04±0,10	8,02±0,09*	11,46±0,34**	11,56±0,07*/**	11,38±0,55**	10,96±0,48*/**
		V <sub>max</sub> /Кт, мкмоль/мин <sup>2</sup>	6,34±0,11	1,65±0,07*	9,02±0,07*/**	8,50±0,13*/**	8,13±0,14*/**	8,56±0,17*/**
	Цитоплазма	Кт, мин	1,04±0,03	1,53±0,06*	0,67±0,03*/**	0,51±0,02*/**	0,49±0,02*/**	0,62±0,02*/**
		V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	12,02±0,09	5,48±0,20*	11,85±0,42**	11,67±0,10*/**	10,87±0,83*/**	11,29±0,54**
		V <sub>max</sub> /Кт, мкмоль/мин <sup>2</sup>	11,56±0,12	3,58±0,12*	17,69±1,05*/**	22,88±0,69*/**	22,18±1,05*/**	18,21±0,87*/**
	Митохондрии	Кт, мин	1,12±0,07	2,06±0,05*	0,57±0,04*/**	1,07±0,03**	1,35±0,06**	1,10±0,05**
		V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	9,96±0,20	4,91±0,18*	9,46±0,17**	9,85±0,11**	10,26±0,22**	10,04±0,26**
		V <sub>max</sub> /Кт, мкмоль/мин <sup>2</sup>	8,89±0,14	2,38±0,11*	16,59±0,82*/**	9,21±0,10**	7,60±0,18*/**	9,13±0,12**
Легкие	Гомогенат	Кт, мин	2,38±0,06	3,92±0,10*	1,88±0,09*/**	1,75±0,05*/**	2,27±0,07**	1,69±0,08*/**
		V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	8,69±0,22	4,83±0,15*	8,21±0,16**	7,93±0,14*/**	8,55±0,19**	8,17±0,15**

	V <sub>max</sub> /Kt, МКМОЛЬ/МИН <sup>2</sup>	3,65±0,10	1,23±0,04*	4,37±0,07 */**	4,53±0,12 */**	3,77±0,16 **	4,83±0,11 */**
Цитоплазма	Kt, мин	1,67±0,06	3,05±0,04*	1,24±0,03 */**	1,08±0,04 */**	1,16±0,08 */**	1,13±0,07 */**
	V <sub>max</sub> , МКМОЛЬ/МИН	7,53±0,12	3,90±0,08*	7,16±0,12 **	6,95±0,13 */**	6,74±0,20 */**	7,03±0,14 */**
	V <sub>max</sub> /Kt, МКМОЛЬ/МИН <sup>2</sup>	4,51±0,10	1,28±0,04*	5,77±0,20 */**	6,44±0,21 */**	5,81±0,15 */**	6,22±0,09 */**
Митохондрии	Kt, мин	1,42±0,08	2,53±0,10*	1,05±0,04 */**	0,84±0,03 */**	1,53±0,06 **	1,60±0,08 **
	V <sub>max</sub> , МКМОЛЬ/МИН	6,89±0,10	3,80±0,07*	6,24±0,18 */**	6,35±0,11 */**	7,02 ±0,13 **	7,15±0,12 **
	V <sub>max</sub> /Kt, МКМОЛЬ/МИН <sup>2</sup>	4,85±0,12	1,50±0,03*	5,94±0,22 */**	7,56±0,16 */**	4,59±0,10 **	4,47±0,13 **

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами (p<0,05); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ (p<0,05).

В печени для ГР нормализовались: после ингаляций NO – Kt, V<sub>max</sub> и V<sub>max</sub>/Kt ГР в гомогенате, цитозоле, ДНКЖ-терапии – Kt в гомогенате, Kt, V<sub>max</sub> и V<sub>max</sub>/Kt в цитозоле, ингаляций СК – Kt и V<sub>max</sub>/Kt в гомогенате, Kt и V<sub>max</sub> в цитозоле, Kt, V<sub>max</sub> и V<sub>max</sub>/Kt в митохондриях, совместных ингаляций NO с ДНКЖ – Kt, V<sub>max</sub> и V<sub>max</sub>/Kt в гомогенате, митохондриях. В почках для ГР нормализовались: после ингаляций NO – Kt, V<sub>max</sub> и V<sub>max</sub>/Kt в митохондриях, ДНКЖ-терапии – Kt, V<sub>max</sub> и V<sub>max</sub>/Kt в гомогенате, V<sub>max</sub> в цитозоле и митохондриях, ингаляций СК – Kt, V<sub>max</sub> и V<sub>max</sub>/Kt в гомогенате, цитозоле, Kt в митохондриях, совместного использования иNO и ДНКЖ – Kt в гомогенате, V<sub>max</sub> в цитозоле. В сердце для ГР нормализовались: после ингаляций NO – V<sub>max</sub> в гомогенате, цитозоле, митохондриях, ДНКЖ-терапии – Kt, V<sub>max</sub> и V<sub>max</sub>/Kt в митохондриях, ингаляций СК – V<sub>max</sub> в гомогенате, Kt и V<sub>max</sub> в митохондриях, совместных ингаляций NO с ДНКЖ – V<sub>max</sub> в цитозоле, Kt, V<sub>max</sub>/Kt и V<sub>max</sub> в митохондриях. В легких для ГР нормализовались: после ингаляций NO – V<sub>max</sub> в гомогенате, цитозоле, ингаляций СК – Kt, V<sub>max</sub> и V<sub>max</sub>/Kt в гомогенате, митохондриях, совместных ингаляций NO с ДНКЖ – V<sub>max</sub> в гомогенате, Kt, V<sub>max</sub> и V<sub>max</sub>/Kt в митохондриях (табл. 83).

Для Гл-6-фДГ V<sub>max</sub>, V<sub>max</sub>/Kt при КТТ возросли в гомогенате, цитозоле, митохондриях печени, гомогенате, цитозоле сердца после ингаляций NO, совместно иNO с ДНКЖ, гомогенате печени, почек, легких – после ДНКЖ-терапии, цитозоле, митохондриях печени, гомогенате, цитозоле

легких – после ингаляций СК, гомогенате, цитозоле, митохондриях почек – ингаляций NO, СК, гомогенате почек, цитозоле легких – совместно и NO с ДНКЖ, гомогенате, цитозоле, митохондриях сердца – ДНКЖ-терапии, ингаляции СК, гомогенате, митохондриях легких – ингаляций NO; Kt, Vmax и Vmax/Kt увеличились в гомогенате печени, митохондриях легких после ингаляции СК, митохондриях легких – после совместно и NO с ДНКЖ; Kt уменьшилось, Vmax, Vmax/Kt увеличились в митохондриях сердца, цитозоле легких после ингаляций NO по сравнению с кинетическими показателями Гл-6-фДГ животных с КТТ без лечения (табл. 84).

Таблица 84

Кинетические показатели глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в субклеточных фракциях органов крыс с комбинированной термической травмой после воздействия АФК и АФА

Орган	Субклеточная фракция	Кинетический показатель	здоровые животные	животные с КТТ				
				10 сутки	+NO	+ДНКЖ	+СК	+NO +ДНКЖ
Печень	Гомогенат	Kt, мин	0,45±0,03	0,30±0,02*	0,36±0,03	0,33±0,02*	0,41±0,01**	0,29±0,02*
		Vmax, мкмоль/мин	8,46±0,20	4,77±0,06*	5,42±0,11**	6,75±0,14**	8,16±0,13**	7,03±0,11**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	18,80±0,07	15,90±0,23*	15,06±0,23**	20,46±1,35**	19,90±0,68**	24,24±2,05**
	Цитоплазма	Kt, мин	0,32±0,03	0,26±0,03	0,23±0,01	0,15±0,01**	0,29±0,02	0,21±0,01
		Vmax, мкмоль/мин	7,85±0,12	4,55±0,12*	6,47±0,25**	7,24±0,16**	6,43±0,15**	5,67±0,08**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	24,53±0,61	17,50±0,11*	28,13±1,04**	48,27±2,02**	22,17±1,16**	27,00±1,23**
	Митохондрии	Kt, мин	0,28±0,03	0,18±0,02*	0,23±0,02	0,11±0,01**	0,25±0,02	0,20±0,01
		Vmax, мкмоль/мин	7,62±0,17	4,17±0,08*	7,15±0,12**	6,75±0,21**	6,78±0,20**	5,83±0,13**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	27,21±0,15	23,17±0,15*	31,09±1,13**	61,36±1,95**	27,12±1,74**	29,15±1,14**
Почки	Гомогенат	Kt, мин	0,64±0,04	0,59±0,04	0,62±0,03	0,60±0,03	0,61±0,02	0,58±0,03
		Vmax, мкмоль/мин	6,68±0,14	3,97±0,13*	4,75±0,20**	5,03±0,07**	6,57±0,20**	5,29±0,11**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	10,44±0,20	6,73±0,20*	7,66±0,31**	8,38±0,12**	10,77±0,85**	9,12±0,20**
	Цитоплазма	Kt, мин	0,55±0,04	0,51±0,04	0,53±0,02	0,24±0,02**	0,49±0,03	0,50±0,02
		Vmax, мкмоль/мин	6,39±0,12	3,62±0,15*	6,27±0,14**	5,67±0,15**	5,82±0,11**	3,81±0,10*
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	11,62±0,09	7,09±0,11*	11,83±0,76**	23,63±0,88**	11,88±0,69**	7,62±0,20*
	Митохондрии	Kt, мин	0,61±0,03	0,62±0,04	0,60±0,02	0,33±0,03**	0,59±0,02	0,64±0,03
		Vmax, мкмоль/мин	5,47±0,13	3,02±0,08*	4,36±0,16**	4,78±0,17**	5,25±0,16**	3,17±0,14*
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	8,97±0,21	4,87±0,11*	7,27±0,22**	14,48±0,36**	8,90±0,18**	4,95±0,08*
Сердце	Гомогенат	Kt, мин	0,58±0,03	0,55±0,03	0,60±0,03	0,54±0,03	0,55±0,02	0,56±0,03

	т	V <sub>max</sub> , МКМОЛЬ/МИН	7,42±0,11	3,89±0,24*	7,57±0,18 **	5,27±0,09 */**	7,26±0,13 **	7,34±0,12 **
		V <sub>max</sub> /Kt, МКМОЛЬ/МИН <sup>2</sup>	12,79±0,20	7,07±0,09*	12,62±0,79 **	9,76±0,14 */**	13,20±0,15 **	13,11±0,07 **
	Цитоплазма	Kt, мин	0,44±0,03	0,45±0,02	0,42±0,02	0,43±0,02	0,41±0,01	0,40±0,02
		V <sub>max</sub> , МКМОЛЬ/МИН	4,83±0,12	2,87±0,15*	4,71±0,09 **	3,65±0,10 */**	4,05±0,08 */**	4,66±0,10 **
		V <sub>max</sub> /Kt, МКМОЛЬ/МИН <sup>2</sup>	10,98±0,23	6,38±0,21*	11,21±0,14 **	8,49±0,21 */**	9,88±0,17 */**	11,65±0,06 */**
	Митохондрии	Kt, мин	0,38±0,02	0,42±0,03	0,22±0,01 */**	0,40±0,03	0,39±0,02	0,44±0,04
		V <sub>max</sub> , МКМОЛЬ/МИН	5,52±0,11	3,02±0,13*	4,36±0,07 */**	4,28±0,06 */**	3,95±0,07 */**	3,26±0,09 *
		V <sub>max</sub> /Kt, МКМОЛЬ/МИН <sup>2</sup>	14,53±0,30	7,19±0,14*	19,82±0,69 */**	10,70±0,57 */**	10,13±0,25 */**	7,41±0,10 *
	Легкие	Гомогенат	Kt, мин	0,82±0,04	0,72±0,04	0,74±0,03	0,79±0,04	0,80±0,04
V <sub>max</sub> , МКМОЛЬ/МИН			8,92±0,14	4,55±0,17*	6,58±0,10 */**	8,76±0,13 **	8,79±0,12 **	4,85±0,09 **
V <sub>max</sub> /Kt, МКМОЛЬ/МИН <sup>2</sup>			10,88±0,22	6,32±0,16*	8,89±0,12 */**	11,09±0,08 **	10,99±0,86 **	6,38±0,06 *
Цитоплазма		Kt, мин	0,72±0,04	0,64±0,04	0,35±0,01 */**	0,40±0,02 */**	0,68±0,03	0,67±0,02
		V <sub>max</sub> , МКМОЛЬ/МИН	6,47±0,13	3,47±0,22*	5,86±0,08 */**	6,21±0,09 **	6,15±0,09 **	5,08±0,06 */**
		V <sub>max</sub> /Kt, МКМОЛЬ/МИН <sup>2</sup>	8,99±0,23	5,42±0,16*	16,74±0,69 */**	15,53±0,67 */**	9,04±0,11 **	7,58±0,05 */**
Митохондрии		Kt, мин	0,57±0,02	0,46±0,02*	0,55±0,02	0,21±0,01 */**	0,60±0,04 **	0,60±0,02 **
		V <sub>max</sub> , МКМОЛЬ/МИН	5,93±0,11	2,75±0,13*	5,89±0,07 **	5,13±0,04 */**	6,18±0,12 **	6,23±0,07 **
		V <sub>max</sub> /Kt, МКМОЛЬ/МИН <sup>2</sup>	10,40±0,18	5,93±0,21*	10,71±0,11 **	24,43±2,03 */**	10,30±0,27 **	10,38±0,09 **

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами (p<0,05); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ (p<0,05).

В печени для Гл-6-фДГ нормализовались: после ингаляций NO – Kt в гомогенате, цитозоле, митохондриях, ДНКЖ-терапии – V<sub>max</sub>/Kt в гомогенате печени, ингаляций СК – Kt, V<sub>max</sub> в гомогенате, Kt, V<sub>max</sub>/Kt в цитозоле, митохондриях, совместных ингаляций NO с ДНКЖ – Kt, V<sub>max</sub>/Kt в цитозоле, Kt в митохондриях. В почках для Гл-6-фДГ нормализовались: после ингаляций NO, ДНКЖ-терапии – Kt в гомогенате, ингаляций NO – Kt, V<sub>max</sub> и V<sub>max</sub>/Kt в цитозоле, СК – Kt, V<sub>max</sub>, V<sub>max</sub>/Kt в гомогенате, митохондриях, Kt, V<sub>max</sub>/Kt – в цитозол, совместных ингаляций NO с ДНКЖ – Kt в гомогенате, цитозоле, митохондриях. В сердце для Гл-6-фДГ нормализовались: после ингаляций NO – Kt, V<sub>max</sub>, V<sub>max</sub>/Kt в гомогенате, цитозоле, ДНКЖ-терапии – Kt в гомогенате, цитозоле, митохондриях, СК – Kt, V<sub>max</sub>/Kt, V<sub>max</sub> в гомогенате, Kt в цитозоле и митохондриях, совместных ингаляций NO с ДНКЖ – Kt, V<sub>max</sub>, V<sub>max</sub>/Kt в гомогенате, Kt, V<sub>max</sub> в цитозоле, Kt в митохондриях. В легких для Гл-6-фДГ нормализовались:

после ингаляций NO – Kt в гомогенате, Kt, Vmax, Vmax/Kt в митохондриях, ДНКЖ-терапии – Kt, Vmax, Vmax/Kt в гомогенате, Vmax в цитозоле, СК – Kt, Vmax, Vmax/Kt в гомогенате, цитозоле, митохондриях, совместных ингаляций NO с ДНКЖ – Kt в гомогенате, цитозоле, Kt, Vmax, Vmax/Kt в митохондриях (табл. 84).

### **3.3.2. Особенности регуляции оксидоредуктаз крыс с ожогом под влиянием активных форм кислорода и азота**

Биохимическими условиями, которые могут приводить к развитию ОС при КТТ, являются избыточное образование АФК, свободных радикалов, продуктов СРО, потенцирование которого обуславливают: 1) дефицитность цитохромоксидазной активности в митохондриях; 2) несбалансированная активность СОД; 3) изменения в гомеостазе железа [530; 853]. В условиях гипоксии, развивающейся при ТТ, происходит блокада конечного звена дыхательной цепи митохондрий и ее разгрузка от постоянно пополняющих дыхательную цепь электронов за счет утечки по пути следования к цитохромоксидазе с образованием  $O_2^-$  и  $H_2O_2$  [25; 299]. Поэтому исследование регуляция функций митохондрий определяет способы нормализации энергетических процессов, играющих важнейшую роль в метаболизме.

Известно о воздействии NO на функционирование митохондрий [40]. Ингаляции NO при КТТ привели к повышению удельной активности СДГ в митохондриях почек, сердца, легких и печени по сравнению с активностью фермента крыс с ТТ на 95,95% ( $p=0,001$ ), в 2,8 раза, в 2,5 раза и 12,85% ( $p=0,062$ ) соответственно (рис. 71), способствуя нормализации активности СДГ в митохондриях почек и сердца. После ингаляций NO удельная активность цитохром с оксидазы возросла в митохондриях печени, почек, сердца и легких в 2,0 раза ( $p=0,003$ ), в 3,3 раза ( $p<0,001$ ), в 2,4 раза ( $p<0,001$ ) и на 45,02% ( $p=0,028$ ) соответственно по сравнению с активностью фермента при ТТ без лечения (рис. 72), превысив активность цитохром с оксидазы здоровых животных в митохондриях почек, сердца, легких, нормализовавшись в митохондриях печени.

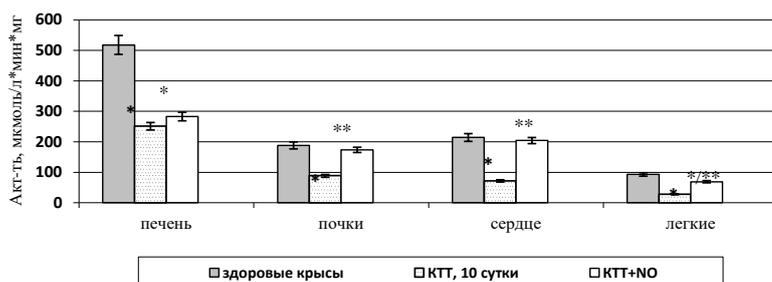


Рис. 71. Активность сукцинатдегидрогеназы в митохондриях органов крыс с КТТ после ингаляций NO

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ).

После воздействия ДНКЖ в митохондриях печени, почек, сердца и легких крыс с КТТ активность СДГ возросла на 29,82% ( $p = 0,027$ ), 91,71% ( $p < 0,001$ ), в 2,6 раза ( $p < 0,001$ ), в 4,2 раза, цитохром *c* оксидазы – в 2,0 раза ( $p < 0,001$ ), в 2,2 раза ( $p < 0,001$ ), на 64,50% ( $p = 0,028$ ), 77,90% ( $p = 0,017$ ) соответственно по сравнению с активностью ферментов у крыс на 10 суток после КТТ без лечения (рис. 73, 74). В результате активность СДГ после воздействия ДНКЖ оказалась выше в митохондриях легких на 24,06% ( $p = 0,031$ ) и нормализовалась в митохондриях почек. Активность цитохром *c* оксидазы после воздействия ДНКЖ оказалась выше здоровых крыс в митохондриях легких и почек, нормализовалась в митохондриях печени. Совместное применение иNO и ДНКЖ при КТТ привело к активации СДГ в митохондриях сердца, легких и почек на 57,06% ( $p = 0,013$ ), 92,49% ( $p = 0,003$ ) и 21,88% ( $p = 0,058$ ) (рис. 75), цитохром *c* оксидазы – в митохондриях печени (22,71% ( $p = 0,021$ )), почек (12,12% ( $p = 0,062$ )), сердца (12,69% ( $p = 0,072$ )), легких (13,81% ( $p = 0,038$ )) (рис. 76) по сравнению с активностью ферментов крыс с КТТ без лечения с нормализацией активности цитохром *c* оксидазы в митохондриях легких.

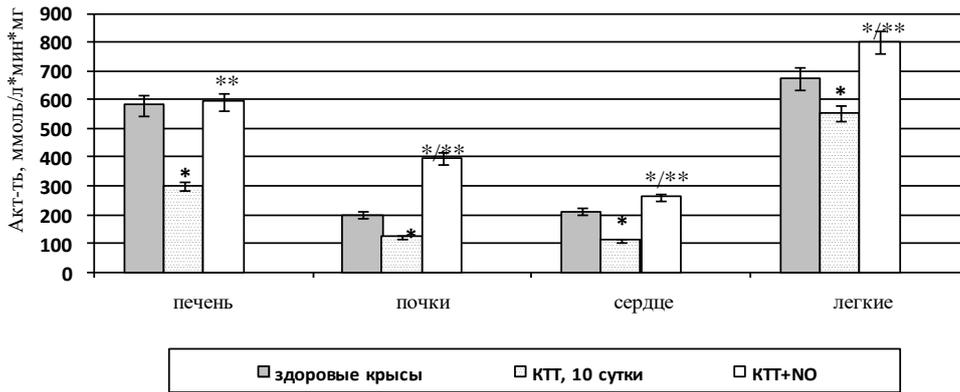


Рис. 72. Активность цитохром *c* оксидазы в митохондриях органов крыс с КТТ после ингаляций NO

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ).

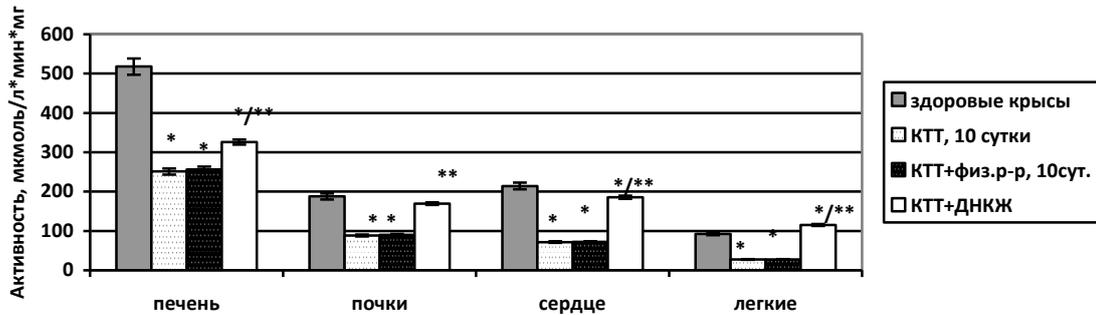


Рис. 73. Активность сукцинатдегидрогеназы в митохондриях органов крыс с КТТ под воздействием ДНКЖ

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ).

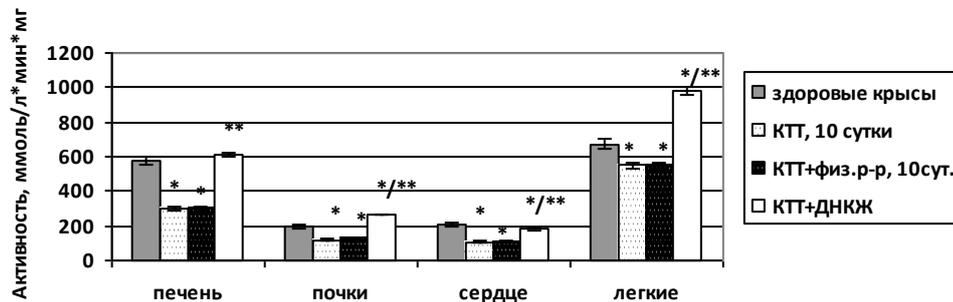


Рис. 74. Активность цитохром *c* оксидазы в митохондриях органов крыс с КТТ под воздействием ДНКЖ

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ).

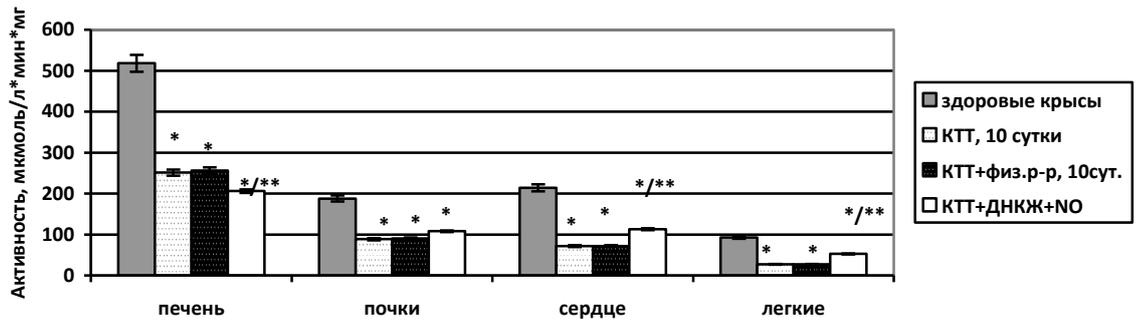


Рис. 75. Активность сукцинатдегидрогеназы в митохондриях органов крыс с КТТ после ингаляций NO и применения ДНКЖ

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ).

Под влиянием ингаляций СК при КТТ в митохондриях печени, почек, сердца, легких удельная активность СДГ возросла на 61,25% ( $p = 0,014$ ), в 2,0 раза ( $p < 0,001$ ), в 2,7 раза ( $p < 0,001$ ), в 3,09 раза ( $p < 0,001$ ) (рис. 77), цитохром *c* оксидазы – на 91,41% ( $p = 0,005$ ), 66,58% ( $p = 0,016$ ), 69,16% ( $p = 0,020$ ), 18,17% ( $p = 0,028$ ) (рис. 78) по сравнению с активностью ферментов у крыс с ТТ без лечения, способствуя нормализации СДГ в митохондриях почек, сердца и легких, цитохром *c* оксидазы – в митохондриях печени, почек, сердца, легких. Ингаляции СК на фоне всех используемых АФК оказали наиболее благоприятное влияние на метаболизм митохондрий, в отличие от совместного использования иNO и ДНКЖ.

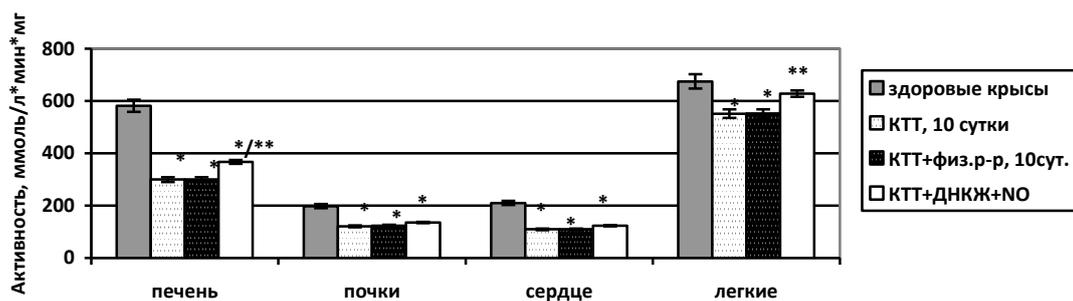


Рис. 76. Активность цитохром *c* оксидазы в митохондриях органов крыс с КТТ после ингаляций NO и применения ДНКЖ

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ).

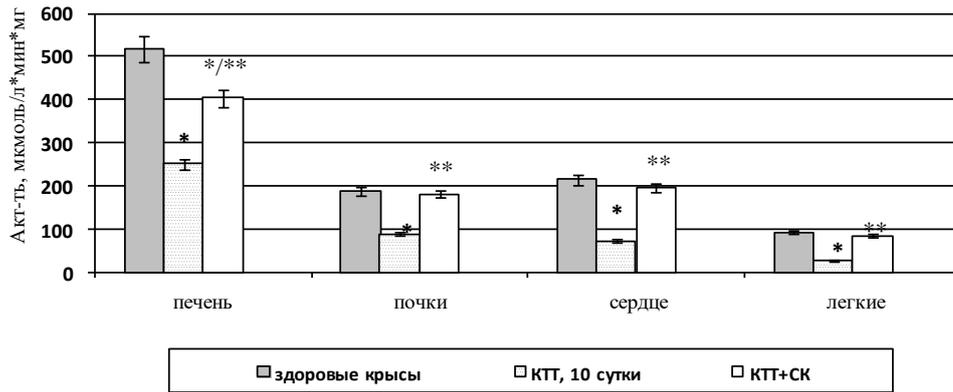


Рис. 77. Активность сукцинатдегидрогеназы в митохондриях органов крыс с КТТ после ингаляций СК

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ).

Рост удельной активности СДГ в митохондриях печени, почек, сердца, легких под влиянием ингаляций NO, СК и ДНКЖ обусловлен снижением Kt, ростом  $V_{max}$ ,  $V_{max}/Kt$  СДГ по сравнению с кинетическими показателями СДГ животных с КТТ без лечения (табл. 85). По сравнению с кинетическими показателями СДГ животных с КТТ без лечения после совместных ингаляций NO с ДНКЖ для СДГ в митохондриях печени крыс с КТТ Kt,  $V_{max}$  увеличились, в митохондриях почек, сердца, легких крыс с КТТ Kt уменьшилось,  $V_{max}$ ,  $V_{max}/Kt$  возросли.

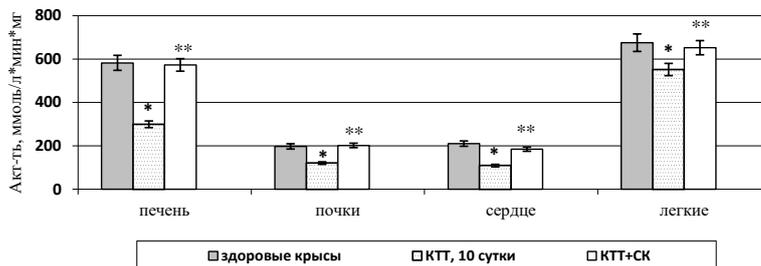


Рис. 78. Активность цитохром с оксидазы в митохондриях органов крыс с КТТ после ингаляций СК

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ).

Таблица 85

**Кинетические показатели сукцинатдегидрогеназы в митохондриях органов крыс с комбинированной термической травмой после воздействия АФК**

Орган	Кинетический показатель	здоровые животные	животные с КТТ				
			10 сутки	+ДНКЖ	+NO	+СК	+NO +ДНКЖ
Печень	Kt, мин	1,75±0,07	3,18±0,11*	2,13±0,09 */**	2,28±0,13 */**	2,33±0,08 */**	3,54±0,11 */**
	V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	10,08±0,34	6,32±0,20*	8,34±0,21 */**	9,07±0,22 */**	9,79±0,16 **	7,01±0,12 */**
	V <sub>max</sub> /Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	5,76±0,22	1,99±0,07*	3,92±0,12 */**	3,98±0,09 */**	4,20±0,10 */**	1,98±0,07 *
Почки	Kt, мин	1,13±0,05	2,95±0,11*	1,17±0,06 **	1,20±0,05 **	1,09±0,04 **	2,23±0,10 */**
	V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	9,76±0,21	5,33±0,18*	9,45±0,23 **	9,94±0,23 **	9,58±0,37 **	7,89±0,18 */**
	V <sub>max</sub> /Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	8,64±0,19	1,81±0,06*	8,08±0,14 */**	8,28±0,17 **	8,79±0,12 **	3,54±0,07 */**
Сердце	Kt, мин	2,03±0,08	3,81±0,10*	2,67±0,05 */**	2,19±0,06 **	1,86±0,03 **	3,13±0,09 */**
	V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	10,55±0,19	7,24±0,21*	9,53±0,16 */**	10,67±0,33 **	10,39±0,25 **	10,02±0,14 */**
	V <sub>max</sub> /Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	5,20±0,13	1,90±0,07*	3,57±0,10 */**	4,87±0,15 **	5,59±0,14 **	3,20±0,12 */**
Легкие	Kt, мин	1,44±0,11	2,97±0,06*	1,23±0,05 **	2,35±0,12 */**	1,50±0,07 **	1,87±0,04 */**
	V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	11,02±0,23	8,03±0,14*	11,67±0,23 */**	10,16±0,24 */**	10,88±0,26 **	9,56±0,15 */**
	V <sub>max</sub> /Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	7,65±0,16	2,70±0,05*	9,49±0,11 */**	4,32±0,08 */**	7,25±0,13 **	5,11±0,09 */**

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами (p<0,05); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ (p<0,05).

Для СДГ отмечена нормализация: после ингаляций СК– V<sub>max</sub> в митохондриях печени, Kt, V<sub>max</sub>, V<sub>max</sub>/Kt в митохондриях почек, сердца, легких; ингаляций NO – Kt, V<sub>max</sub>, V<sub>max</sub>/Kt в митохондриях почек, сердца; ДНКЖ-терапии – Kt, V<sub>max</sub> в митохондриях почек, Kt в митохондриях легких. В митохондриях печени по сравнению с кинетическими показателями цитохром с оксидазы животных с КТТ без лечения после ингаляций NO, СК Kt уменьшилось, V<sub>max</sub>/Kt увеличилась, после ДНКЖ-терапии, совместных ингаляций NO с ДНКЖ Kt для цитохром с оксидазы уменьшилось, V<sub>max</sub>, V<sub>max</sub>/Kt возросли. В митохондриях почек, сердца, легких крыс с КТТ после ингаляций NO, СК, ДНКЖ-терапии, совместных ингаляций NO с ДНКЖ Kt для цитохром с оксидазы уменьшилось, V<sub>max</sub>, V<sub>max</sub>/Kt увеличились по сравнению с кинетическими показателями цитохром с оксидазы животных с КТТ без лечения (табл. 86).

Для цитохром с оксидазы отмечена нормализация: после ингаляций NO – Kt и V<sub>max</sub> в митохондриях печени, легких, V<sub>max</sub> в митохондриях почек,

сердца, ДНКЖ-терапии –  $V_{\max}/K_t$  в митохондриях печени,  $V_{\max}$  в митохондриях почек, легких, ингаляций СК –  $K_t$  и  $V_{\max}$  в митохондриях печени,  $K_t$ ,  $V_{\max}$ ,  $V_{\max}/K_t$  в митохондриях почек, сердца,  $K_t$  и  $V_{\max}/K_t$  в митохондриях легких, совместного применения и NO с ДНКЖ–  $K_t$ ,  $V_{\max}$ ,  $V_{\max}/K_t$  в митохондриях легких (табл. 86).

Таблица 86

Кинетические показатели цитохром *c* оксидазы в митохондриях органов крыс с комбинированной термической травмой после воздействия АФК и АФА

Орган	Кинетический показатель	здоровые животные	животные с КТТ				
			10 сутки	+ДНКЖ	+NO	+СК	+NO+ДНКЖ
Печень	$K_t$ , мин	0,51±0,05	1,28±0,09*	0,75±0,04 */**	0,49±0,03 **	0,55±0,05 **	0,82±0,06 */**
	$V_{\max}$ , мкмоль/мин	6,98±0,16	7,02±0,13	10,28±0,35 */**	7,01±0,10	6,95±0,24	8,36±0,24 */**
	$V_{\max}/K_t$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	13,69±0,14	5,48±0,14*	13,71±0,46 **	14,31±0,22 */**	12,64±0,45 */**	10,20±0,31 */**
Почки	$K_t$ , мин	0,82±0,04	1,54±0,08*	0,64±0,05 */**	0,57±0,03 */**	0,79±0,03 **	1,13±0,05 */**
	$V_{\max}$ , мкмоль/мин	9,05±0,16	6,19±0,17*	9,12±0,18 **	8,63±0,18 **	8,93±0,18 **	7,64±0,17 */**
	$V_{\max}/K_t$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	11,04±0,22	4,02±0,16*	14,25±0,31 */**	15,14±0,25 */**	11,30±0,15 **	6,76±0,12 */**
Сердце	$K_t$ , мин	0,59±0,03	1,44±0,07*	0,82±0,03 */**	0,46±0,02 */**	0,62±0,04 **	1,13±0,05 */**
	$V_{\max}$ , мкмоль/мин	5,34±0,09	3,65±0,10*	4,75±0,12 */**	5,27±0,14 **	5,29±0,13 **	4,67±0,08 */**
	$V_{\max}/K_t$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	9,05±0,23	2,53±0,09*	5,79±0,15 */**	11,46±0,23 */**	8,53±0,16 **	4,13±0,10 */**
Легкие	$K_t$ , мин	0,64±0,06	1,95±0,14*	0,42±0,02 */**	0,50±0,03 **	0,60±0,04 **	0,65±0,05 **
	$V_{\max}$ , мкмоль/мин	7,82±0,15	4,18±0,06*	7,63±0,21 **	7,57±0,17 **	7,31±0,15 */**	7,98±0,16 **
	$V_{\max}/K_t$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	12,22±0,31	2,14±0,05*	18,17±0,14 */**	15,14±0,28 */**	12,18±0,19 **	12,28±0,24 **

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p<0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ ( $p<0,05$ ).

Митохондрии (25–30% от массы миокарда), локализованы близко к миофибриллам и соединены между собой системой межмитохондриальных контактов. Основным «топливом» для работы сердца служат жирные кислоты, глюкоза, лактат и, в меньшей степени, пируват и кетоновые тела, поступающие из кровотока [80]. Эндогенный NO влияет на активность СДГ, глицеральдегидфосфатдегидрогеназы, изменяя распад глюкозы [189].

Так как СДГ и цитохром *c* оксидазы могут выступать в качестве маркеров метаболических нарушений при гипоксии, обусловленной ТТ, изменение их активности обусловило необходимость оценки содержания глюкозы и лактата в крови крыс с КТТ после воздействия АФК. Показано

снижение концентрации лактата в плазме крови при КТТ под влиянием иNO, ДНКЖ, их совместного применения в 2,2 раза ( $p < 0,001$ ), на 9,34% ( $p = 0,036$ ), 18,17% ( $p = 0,031$ ) соответственно по сравнению с показателями крыс с КТТ. В эритроцитах крови крыс с КТТ выявлено уменьшение концентрации лактата при использовании иNO, ДНКЖ, совместного использования иNO с ДНКЖ, СК на 38,06% ( $p = 0,018$ ), 25,98% ( $p = 0,027$ ), 48,31% ( $p = 0,014$ ), 41,72% ( $p = 0,011$ ) соответственно по сравнению с показателями крыс с КТТ. При этом уровень лактата нормализовался в эритроцитах под влиянием СК и совместного применения иNO и ДНКЖ (рис. 79).

В результате проведенного исследования отмечено снижение концентрации глюкозы в плазме и эритроцитах крови крыс с КТТ после применения АФК. Под влиянием иNO, ДНКЖ, СК концентрация глюкозы в плазме при КТТ уменьшилась на 3,86% ( $p = 0,087$ ), 8,26% ( $p = 0,034$ ), 12,84% ( $p = 0,027$ ) по сравнению с показателями животных с ТТ без лечения. В эритроцитах ингаляции NO при КТТ привели к снижению уровня глюкозы на 30,64% ( $p = 0,019$ ), ДНКЖ – на 25,91% ( $p = 0,023$ ), совместное применение ДНКЖ и иNO – на 20,01% ( $p = 0,020$ ), ингаляции СК – на 48,12% ( $p = 0,005$ ) (рис. 80). Уровень глюкозы в плазме и эритроцитах при КТТ под влиянием иNO, ДНКЖ, совместно иNO с ДНКЖ остался выше значений здоровых крыс, нормализовался в эритроцитах при ингаляциях СК.

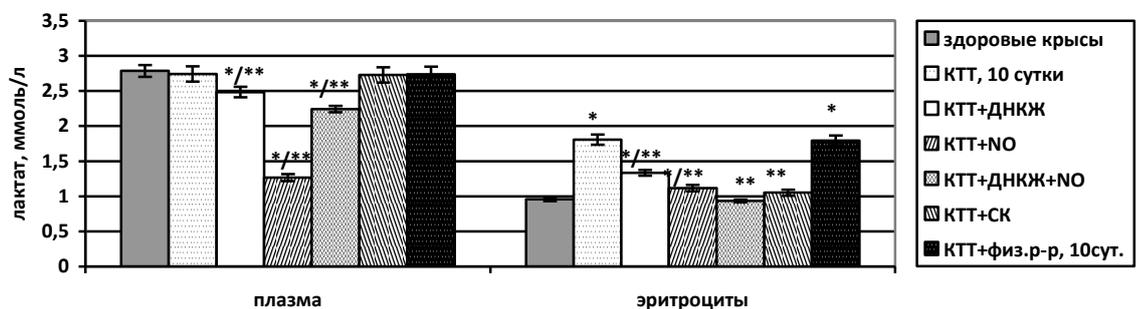


Рис. 79. Концентрация лактата в крови крыс с КТТ после воздействия АФК

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ).

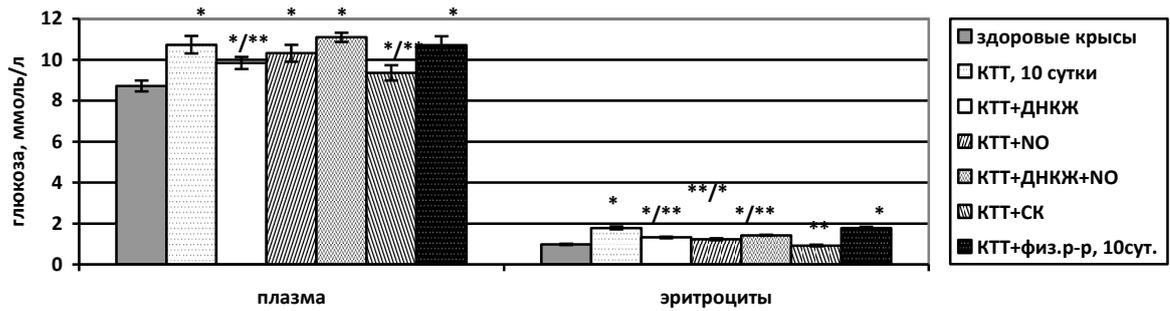


Рис. 80. Концентрация глюкозы в крови крыс с КТТ после воздействия АФК  
Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, у крыс с КТТ применение АФК привело к нормализации углеводного метаболизма, проявляющееся в уменьшении уровня лактата и глюкозы в крови. При КТТ под влиянием АФК в крови активировался аэробный гликолиз, о чем свидетельствовало снижение концентрации молочной кислоты.

Показано повышение удельной активности ЛДГпр, ЛДГобр в эритроцитах крови крыс после ингаляций NO, ДНКЖ-терапии, СК, совместного применения иNO с ДНКЖ по сравнению с показателем крыс с КТТ без лечения. АФК оказали нормализующее (СК, иNO + ДНКЖ) или активирующее влияние на ЛДГпр (иNO, ДНКЖ) по сравнению с показателем здоровых животных. Выявлено нормализующее влияние иNO, ДНКЖ, совместного применения иNO с ДНКЖ на ЛДГобр.

Установлено повышение КБЭР в эритроцитах крови крыс с КТТ после ингаляций NO, ДНКЖ-терапии, СК, совместного применения иNO с ДНКЖ в 3,5 раза ( $p < 0,001$ ), в 3,8 раза ( $p < 0,001$ ), на 50,97% ( $p = 0,018$ ), 72,82% ( $p = 0,012$ ) по сравнению с КБЭР крыс с КТТ без лечения, что способствовало уменьшению концентрации молочной кислоты. Наблюдалось нормализующее (СК) или активирующее (иNO, ДНКЖ, иNO + ДНКЖ) влияние АФК на КБЭР по сравнению с КБЭР здоровых животных (табл. 87).

Таблица 87

Удельная активность лактатдегидрогеназы и коэффициент баланса энергетических реакций в крови и органах крыс с комбинированной термической травмой после воздействия АФК и АФА

Объект исследования	Условия эксперимента	ЛДГ пр, нмоль НАДН/мин ×мг белка	ЛДГ обр, нмоль НАДН/мин ×мг белка	КБЭР	
Кровь	Здоровые крысы	42,772±1,265	174,179±4,368	6,041±0,247	
	КТТ, 10 сутки	26,513±1,380*	126,660±5,172*	4,375±0,226*	
	КТТ+физ.р-р, 10сут.	25,728±1,415*	125,879±4,956*	4,169±0,237*	
	КТТ+ДНКЖ	73,840±1,742*/**	180,171±3,547**	16,803±0,547*/**	
	КТТ+NO	71,333±2,003*/**	182,295±2,619**	15,297±0,623*/**	
	КТТ+СК	40,695±1,316**	158,340±1,885*/**	6,605±0,389**	
	КТТ+NO+ДНКЖ	48,241±2,134**	175,478±3,014**	7,561±0,417*/**	
Печень	гомогенат	Здоровые крысы	245,098±7,854	310,731±2,538	62,224±1,108
		КТТ, 10 сутки	124,613±1,948*	279,257±3,079*	19,902±0,115*
		КТТ+физ.р-р, 10сут.	123,927±2,005*	278,763±2,894*	19,788±0,219*
		КТТ+ДНКЖ	378,758±3,105*/**	437,107±4,515*/**	115,405±2,397*/**
		КТТ+NO	445,787±5,122*/**	809,835±9,586*/**	30,325±1,235*/**
		КТТ+СК	155,534±2,537*/**	326,557±3,362*/**	22,677±2,014*
		КТТ+NO+ДНКЖ	252,308±2,048**	618,950±7,491*/**	16,633±1,006*/**
	цитоплазматическая фракция	Здоровые крысы	351,808±6,007	637,948±12,156	30,392±0,547
		КТТ, 10 сутки	227,657±8,336*	545,955±10,081*	17,389±0,187*
		КТТ+физ.р-р, 10сут.	226,985±7,643*	545,753±9,726*	17,304±0,202*
		КТТ+ДНКЖ	437,354±6,024*/**	749,199±8,573*/**	34,092±1,426**
		КТТ+NO	396,850±5,813*/**	725,835±12,032*/**	29,907±1,248**
		КТТ+СК	310,053±4,512*/**	625,835±10,481**	24,517±2,035**
		КТТ+NO+ДНКЖ	386,057±3,795*/**	613,479±9,639**	39,585±2,677*/**
	митохондриальная фракция	Здоровые крысы	137,195±4,962	531,141±5,227	6,665±0,086
		КТТ, 10 сутки	72,672±1,152*	403,715±5,583*	3,240±0,056*
		КТТ+физ.р-р, 10сут.	74,286±2,069*	405,012±4,673*	3,357±0,097*
		КТТ+ДНКЖ	230,535±2,546*/**	967,584±13,764*/**	5,671±0,425*/**
		КТТ+NO	329,912±3,018*/**	1237,283±24,052*/**	7,120±0,397**
		КТТ+СК	303,835±4,732*/**	1015,739±13,897*/**	8,944±0,564*/**
		КТ+NO+ДНКЖ	154,875±3,045**	483,150±6,026*/**	10,292±0,632*/**
Почки	гомогенат	Здоровые крысы	580,286±5,487	709,552±11,471	66,803±1,203
		КТТ, 10 сутки	327,451±3,995*	620,045±7,338*	27,877±0,223*
		КТТ+физ.р-р, 10сут.	326,879±3,625*	619,728±6,575*	27,795±0,254*
		КТТ+ДНКЖ	524,167±8,724*/**	687,424±10,157**	58,156±3,040**
		КТТ+NO	500,243±9,368*/**	654,728±12,032*/**	58,365±1,968*/**
		КТТ+СК	431,169±10,004*/**	692,348±11,214**	38,792±2,205*/**
		КТТ+NO+ДНКЖ	368,964±9,037*/**	653,417±9,205*/**	31,903±1,034*
	цитоплазматическая фракция	Здоровые крысы	417,146±2,684	580,965±6,017	51,543±2,007
		КТТ, 10 сутки	302,047±3,109*	487,862±6,055*	38,328±0,199*
		КТТ+физ.р-р, 10сут.	301,568±3,842*	486,915±5,746*	38,328±0,087*
		КТТ+ДНКЖ	449,705±7,553*/**	593,642±5,438**	57,348±3,054**
		КТТ+NO	411,798±6,268**	608,903±6,216*/**	45,707±0,628**
		КТТ+СК	403,576±5,902**	573,569±5,492**	49,543±1,739**
		КТТ+NO+ДНКЖ	630,258±9,347*/**	800,950±11,025*/**	61,919±3,526*/**
	митохондриальная фракция	Здоровые крысы	88,848±1,056	141,806±4,304	39,256±0,968
		КТТ, 10 сутки	56,940±0,895*	107,481±6,115*	28,019±0,654*
		КТТ+физ.р-р, 10сут.	55,874±1,013*	106,754±5,983*	27,368±0,792*
		КТТ+ДНКЖ	126,013±2,016*/**	168,934±3,892*/**	55,630±2,342*/**
		КТТ+NO	113,265±1,874*/**	185,942±4,026*/**	37,089±2,109**
		КТТ+СК	98,637±2,031*/**	161,283±3,574**	37,431±2,040**
		КТТ+NO+ДНКЖ	125,298±1,365*/**	205,398±5,281*/**	37,218±1,126**
Сердце	гомогенат	Здоровые крысы	326,559±7,214	410,955±12,872	63,196±2,031
		КТТ, 10 сутки	248,098±5,471*	368,033±6,752*	45,448±1,014*
		КТТ+физ.р-р, 10сут.	247,655±4,893*	367,854±5,936*	45,320±1,205*
		КТТ+ДНКЖ	519,306±3,204*/**	768,017±3,874*/**	45,707±2,270*
		КТТ+NO	614,308±4,345*/**	817,354±6,003*/**	56,499±3,005**
		КТТ+СК	458,962±1,872*/**	664,773±4,396*/**	47,652±2,031*
		КТТ+NO+ДНКЖ	467,280±2,369*/**	702,314±5,320*/**	44,245±1,684*
	цитоплазматическая фракция	Здоровые крысы	579,633±8,876	1158,824±12,084	25,013±0,657
		КТТ, 10 сутки	367,812±4,814*	875,201±8,167*	17,654±0,939*
		КТТ+физ.р-р, 10сут.	368,034±5,027*	876,098±8,451*	17,647±0,832*
		КТТ+ДНКЖ	627,965±7,022*/**	994,170±10,025*/**	39,924±2,106*/**
		КТТ+NO	548,949±5,149**	1257,661±19,518*/**	19,031±0,984*
		КТТ+СК	539,379±2,765*/**	1136,589±21,304**	22,544±1,235**

легкие	митохондриальная фракция	КТТ+NO+ДНКЖ	581,731±4,893**	1058,258±13,492*/**	30,236±1,017*/**
		Здоровые крысы	147,401±1,339	197,572±2,049	55,672±3,261
		КТТ, 10 сутки	84,786±2,005*	167,996±2,543*	25,492±1,004*
		КТТ+физ.р-р, 10сут.	85,003±1,867*	168,012±2,971*	25,594±0,997*
		КТТ+ДНКЖ	123,698±3,056*/**	229,100±4,129*/**	29,104±0,387*
		КТТ+NO	206,700±5,127*/**	281,657±3,301*/**	53,852±2,105**
		КТТ+СК	142,687±1,348**	275,637±2,984*/**	26,812±1,732*
легкие	гомогенат	Здоровые крысы	143,801±4,257	256,951±3,006	31,281±1,153
		КТТ, 10 сутки	106,165±2,121*	204,308±3,018*	26,975±0,843*
		КТТ+физ.р-р, 10сут.	105,753±2,086*	203,675±2,954*	26,947±0,755*
		КТТ+ДНКЖ	168,810±3,035*/**	283,020±2,792*/**	35,599±0,271*/**
		КТТ+NO	139,537±2,467**	243,604±3,468**	32,818±1,345**
		КТТ+СК	120,735±1,903*/**	238,276±5,003*/**	25,684±0,587*
		КТТ+NO+ДНКЖ	173,520±4,028*/**	329,180±4,215*/**	27,781±2,023
	цитоплазматическая фракция	Здоровые крысы	234,676±9,573	400,209±1,157	34,369±0,902
		КТТ, 10 сутки	158,626±3,023*	346,462±5,217*	20,971±0,662*
		КТТ+физ.р-р, 10сут.	157,918±2,977*	345,773±4,812*	20,868±0,954*
		КТТ+ДНКЖ	214,836±2,904*/**	387,570±6,105*/**	30,709±1,475*/**
		КТТ+NO	223,583±4,376**	368,673±3,843*/**	36,749±0,983**
		КТТ+СК	215,491±5,024*/**	386,473±5,129*/**	31,104±2,312**
		КТТ+NO+ДНКЖ	191,233±3,581*/**	255,025±4,756*/**	56,147±1,869*/**
	митохондриальная фракция	Здоровые крысы	166,340±1,227	175,724±1,893	89,678±2,058
		КТТ, 10 сутки	105,854±3,397*	148,120±3,327*	51,108±1,581*
		КТТ+физ.р-р, 10сут.	104,973±2,856*	147,653±3,628*	50,533±1,219*
		КТТ+ДНКЖ	158,369±3,021**	165,912±2,489**	91,126±3,024**
		КТТ+NO	225,183±4,005*/**	263,097±5,137*/**	73,288±2,167*/**
		КТТ+СК	136,415±1,859*/**	159,173±3,628*/**	73,436±1,843*/**
		КТТ+ДНКЖ+NO	135,861±2,743*/**	160,384±4,049*/**	71,719±2,005*/**

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p<0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ ( $p<0,05$ ).

После ДНКЖ-терапии, ингаляций СК, NO, совместного применения иNO с ДНКЖ при КТТ удельная активность ЛДГ<sub>пр</sub> и ЛДГ<sub>обр</sub> увеличилась по сравнению с показателями крыс с КТТ без лечения в гомогенате, цитозоле, митохондриях печени, почек, сердца, легких. КБЭР крыс с КТТ после ингаляций NO по сравнению с КБЭР крыс с КТТ без лечения увеличился в субклеточных фракциях печени, почек, легких, в гомогенате и митохондриях сердца, нормализовавшись в цитоплазме и митохондриях печени, почек, гомогенате и митохондриях сердца. КБЭР при КТТ после воздействия ДНКЖ по сравнению с КБЭР крыс с КТТ без лечения возрос в гомогенате, цитозоле, митохондриях печени в 5,8 раза ( $p<0,001$ ), на 96,06% ( $p=0,004$ ), 75,03% ( $p=0,012$ ), почек – в 2,1 раза ( $p<0,001$ ), на 49,62% ( $p=0,034$ ), 98,54% ( $p<0,001$ ), легких – на 31,97% ( $p=0,028$ ), 46,44% ( $p=0,018$ ), 78,30% ( $p=0,012$ ), в цитозоле сердца – в 2,3 раза ( $p<0,001$ ), нормализовавшись в цитозоле печени, гомогенате и цитозоле почек, митохондриях легких. По сравнению с КБЭР крыс с КТТ без лечения КБЭР после ингаляций СК при

КТТ возрос в цитозоле и митохондриях печени на 40,99% ( $p=0,033$ ), в 2,8 раза ( $p<0,001$ ), легких – на 48,32% ( $p=0,017$ ), 43,69% ( $p=0,027$ ), гомогенате, цитозоле, митохондриях почек – на 39,15% ( $p=0,028$ ), 29,26% ( $p=0,034$ ), 33,59% ( $p=0,031$ ), цитозоле сердца – на 27,70% ( $p=0,026$ ). КБЭР после ингаляций СК нормализовался в цитозоле печени, сердца, легких, цитозоле и митохондриях почек. По сравнению с КБЭР крыс с КТТ без лечения КБЭР при КТТ после совместного использования ДНКЖ и иNO возрос в цитозоле и митохондриях печени, почек, сердца и легких, нормализовавшись в митохондриях почек, гомогенате легких (табл. 87).

Выявлено активирующее влияние иNO на активность ЛДГпр и ЛДГобр в субклеточных фракциях печени, сердца по сравнению с показателями здоровых животных. Активность ЛДГпр нормализовалась в цитозоле почек, гомогенате, цитозоле легких, ЛДГобр – в гомогенате легких после иNO.

ДНКЖ по сравнению с показателями здоровых животных активировали ЛДГпр в субклеточных фракциях печени, цитозоле и митохондриях почек, гомогенате и цитоплазме сердца, гомогенате легких, ЛДГобр – в гомогенате, цитозоле и митохондриях печени, митохондриях почек, гомогенате и митохондриях сердца, гомогенате легких, активность ЛДГобр нормализовалась в гомогенате и цитоплазме почек, митохондриях легких, ЛДГпр – в митохондриях легких. По сравнению с показателями здоровых животных активность ЛДГпр после ингаляций СК была выше в митохондриях печени, почек, гомогенате сердца, ЛДГобр – в гомогенате и митохондриях печени, сердца, активность ЛДГпр нормализовалась в цитозоле почек, митохондриях сердца, ЛДГобр – в цитозоле печени, сердца, всех субклеточных фракциях почек. По сравнению с показателями здоровых животных активность ЛДГпр после совместного применения ДНКЖ и иNO была выше в цитозоле печени, цитозоле и митохондриях почек, гомогенате сердца, легких, нормализовавшись в гомогенате и митохондриях печени, цитозоле и митохондриях сердца. По сравнению с показателями здоровых животных активность ЛДГобр после совместного применения ДНКЖ и иNO

была выше в гомогенате печени, сердца, легких, цитозоле и митохондриях почек, нормализовавшись в цитозоле печени.

При анализе изменения активности ЛДГ, общепринято учитывать либо эффект Пастера, объединяющий процессы гликолиза и дыхания, либо эффект Варбурга [475; 541; 561; 711; 894]. Эффект Пастера, особенно значимый для опухолевых клеток, заключается в прекращении образования в них лактата в аэробных условиях по глицерофосфатному челночному механизму в процессах гликолиза и дыхания [475]. В процессе дыхания большинство раковых клеток, в отличие от нормальных клеток, накапливают значительное количество лактата в результате недостатка цитоплазматической глицерофосфатдегидрогеназы. Не имея возможности окислять НАДН митохондриальным путем, клетки реокисляют НАДН за счет пирувата при помощи ЛДГ; при этом в аэробных условиях накапливается лактат. Эффект Варбурга предполагает активный гликолиз в опухолевых клетках с последующим образованием молочной кислоты, а не медленный гликолиз и окисление пирувата в митохондриях с использованием кислорода как в большинстве нормальных клеток [475; 894].

Способность АФК активировать энергетический метаболизм в клетках тканей и органов при КТТ как по пути гликолиза, так и окислительного фосфорилирования (увеличение активности ЛДГ<sub>пр</sub> и ЛДГ<sub>обр</sub>) может являться предпосылкой для эффективного действия изучаемых АФК на клетки при КТТ. Мы полагаем, что метаболическая пластичность под действием АФК может влиять на физиологию клеток *in vivo* и являться элементом метаболической терапии для лечения ОБ.

Под влиянием ингаляций NO, СК, ДНКЖ, совместного применения иNO с ДНКЖ для ЛДГ<sub>пр</sub> и ЛДГ<sub>обр</sub> в эритроцитах выявлены снижение Kt, рост V<sub>max</sub> и V<sub>max</sub>/Kt. В эритроцитах крови крыс с КТТ нормализовались после ингаляций NO для ЛДГ<sub>пр</sub> – Kt, V<sub>max</sub>/Kt, для ЛДГ<sub>обр</sub> – Kt, V<sub>max</sub> и V<sub>max</sub>/Kt для ЛДГ<sub>обр</sub>; ДНКЖ-терапии для ЛДГ<sub>обр</sub> – в Kt, V<sub>max</sub> и V<sub>max</sub>/Kt;

ингаляций СК для ЛДГпр –  $V_{\max}/Kt$ ; совместных ингаляций NO с ДНКЖ для ЛДГпр и ЛДГобр –  $Kt$ ,  $V_{\max}$ ,  $V_{\max}/Kt$  (табл. 88).

Таблица 88

Кинетические показатели лактатдегидрогеназы в крови здоровых крыс с комбинированной термической травмой после воздействия АФК и АФА

Фермент	Кинетический показатель	здоровые животные	животные с КТТ				
			10 сутки	+NO	+ДНКЖ	+СК	+NO+ДНКЖ
ЛДГпр	Kt, мин	2,14±0,08	3,46±0,11*	1,87±0,12**	1,64±0,08*/**	2,58±0,12*/**	2,03±0,06**
	$V_{\max}$ , мкмоль/мин	13,48±0,13	7,44±0,26*	12,36±0,23*/**	11,95±0,17*/**	16,34±0,46*/**	13,97±0,42**
	$V_{\max}/Kt$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	6,30±0,14	2,15±0,09*	6,61±0,15**	7,29±0,11*/**	6,33±0,22**	6,88±0,35**
ЛДГобр	Kt, мин	3,25±0,07	6,01±0,08*	3,17±0,09**	3,22±0,06**	4,38±0,15*/**	3,19±0,13**
	$V_{\max}$ , мкмоль/мин	11,71±0,20	6,99±0,15*	11,58±0,26**	12,03±0,13**	14,17±0,39*/**	11,64±0,27**
	$V_{\max}/Kt$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	3,60±0,10	1,16±0,03*	3,65±0,10**	3,74±0,07**	3,24±0,05*/**	3,65±0,11**

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p<0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ ( $p<0,05$ ).

Показано для ЛДГпр уменьшение  $Kt$ ,  $V_{\max}$ , рост  $V_{\max}/Kt$  у крыс с КТТ в гомогенате, цитозоле, митохондриях печени после ингаляций NO, ДНКЖ-терапии, цитозоле, митохондриях печени, почек – после совместно иNO с ДНКЖ, митохондриях печени – ингаляций СК, гомогенате, митохондриях почек – ингаляций NO, СК, гомогенате почек – ДНКЖ-терапии; уменьшение  $Kt$  и увеличение  $V_{\max}/Kt$  в гомогенате печени после совместных ингаляций NO с ДНКЖ, цитозоле почек – после ингаляций NO, СК, митохондриях почек – ДНКЖ-терапии; снижению  $Kt$ , повышению  $V_{\max}$ ,  $V_{\max}/Kt$  в гомогенате, цитозоле печени после ингаляций СК, цитозоле почек – ДНКЖ-терапии, гомогенате, цитозоле почек – совместно иNO с ДНКЖ, гомогенате, цитозоле, митохондриях сердца, легких – после ингаляции NO, СК, ДНКЖ-терапии, совместно иNO с ДНКЖ у по сравнению с кинетическими показателями ЛДГпр животных с КТТ без лечения (табл. 89).

Таблица 89

Кинетические показатели лактатдегидрогеназы в прямой реакции в субклеточных фракциях органов здоровых крыс и животных с комбинированной термической травмой после воздействия АФК и АФА

Орган	Субклеточная фракция	Кинетический показатель	здоровые животные	животные с КТТ				
				10 сутки	+NO	+ДНКЖ	+СК	+NO+ДНКЖ
Печень	Гомогенат	Kt, мин	0,94±0,05	1,99±0,04*	0,75±0,04*/**	0,63±0,04*/**	1,22±0,09*/**	0,89±0,05**

		V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	10,23 ±0,12	10,28 ±0,22	9,64±0,23 */**	9,58±0,27 */**	11,47±0,31 */**	9,55±0,40
		V <sub>max</sub> /K <sub>t</sub> , мкмоль/мин <sup>2</sup>	10,88 ±0,23	5,17 ±0,11*	12,85±0,62 */**	15,21±0,19 */**	9,40±0,25 */**	10,73±0,34 **
		К <sub>t</sub> , мин	0,87 ±0,03	1,64 ±0,08*	0,65±0,03 */**	0,71±0,04 */**	1,24±0,07 */**	0,63±0,05 */**
	Цитоплазма	V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	9,31 ±0,27	9,27 ±0,15	8,27±0,15 */**	9,03±0,12	10,65±0,23 */**	8,45±0,31 */**
		V <sub>max</sub> /K <sub>t</sub> , мкмоль/мин <sup>2</sup>	10,70 ±0,25	5,65 ±0,10*	12,72±0,21 */**	12,72±0,30 */**	8,59±0,18 */**	13,41±0,16 */**
		К <sub>t</sub> , мин	0,95 ±0,06	2,31 ±0,10*	0,81±0,03 **	0,77±0,05 */**	0,80±0,03 **	0,69±0,04 */**
	Митохондрии	V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	8,82 ±0,21	8,79 ±0,25	7,64±0,20 */**	8,05±0,12 */**	7,59±0,34 */**	8,13±0,12 */**
		V <sub>max</sub> /K <sub>t</sub> , мкмоль/мин <sup>2</sup>	9,28 ±0,19	3,81 ±0,08*	9,43±0,18 **	10,46±0,34 */**	9,49±0,28 **	11,78±0,33 */**
		К <sub>t</sub> , мин	1,02 ±0,05	1,96 ±0,07*	1,35±0,07 */**	1,29±0,08 */**	1,44±0,07 */**	1,37±0,08 */**
Почки	Гомогенат	V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	7,54 ±0,13	7,61 ±0,12	6,78±0,16 */**	6,57±0,23 */**	7,01±0,15 */**	8,62±0,24 */**
		V <sub>max</sub> /K <sub>t</sub> , мкмоль/мин <sup>2</sup>	7,39 ±0,22	3,88 ±0,07*	5,02±0,08 */**	5,09±0,12 */**	4,87±0,21 */**	6,29±0,13 */**
		К <sub>t</sub> , мин	0,82 ±0,04	1,58 ±0,04*	0,79±0,04 **	0,65±0,05 **	1,13±0,07 */**	0,70±0,05 **
	Цитоплазма	V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	6,36 ±0,11	6,29 ±0,17	6,13±0,11	7,22±0,19 */**	5,84±0,24 *	6,88±0,20 */**
		V <sub>max</sub> /K <sub>t</sub> , мкмоль/мин <sup>2</sup>	7,76 ±0,22	3,98 ±0,19*	7,76±0,24 **	11,11±0,14 */**	5,17±0,09 */**	9,83±0,18 */**
		К <sub>t</sub> , мин	1,11 ±0,08	2,27 ±0,05*	0,85±0,04 */**	1,02±0,03 **	0,79±0,05 */**	0,68±0,04 */**
	Митохондрии	V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	8,03 ±0,15	7,88 ±0,25	7,23±0,12 */**	7,55±0,20 *	7,18±0,12 */**	6,14±0,13 */**
		V <sub>max</sub> /K <sub>t</sub> , мкмоль/мин <sup>2</sup>	7,23 ±0,21	3,47 ±0,08*	8,51±0,17 */**	7,40±0,31 **	9,09±0,18 */**	9,03±0,17 */**
		К <sub>t</sub> , мин	0,45 ±0,02	1,41 ±0,08*	0,27±0,03 */**	0,30±0,04 */**	0,40±0,02 **	0,32±0,03 */**
Сердце	Гомогенат	V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	4,63 ±0,12	2,78 ±0,10*	4,15±0,12 */**	3,98±0,17 */**	4,24±0,13 **	4,07±0,14 */**
		V <sub>max</sub> /K <sub>t</sub> , мкмоль/мин <sup>2</sup>	10,29 ±0,23	1,97 ±0,14*	15,37±0,25 */**	13,27±0,25 */**	10,60±0,58 **	12,72±0,46 */**
		К <sub>t</sub> , мин	0,53 ±0,02	1,19 ±0,04*	0,84±0,05 */**	0,36±0,04 */**	0,75±0,04 */**	0,55±0,04 **
	Цитоплазма	V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	3,79 ±0,08	1,82 ±0,14*	4,05±0,09 */**	2,97±0,16 */**	3,86±0,11 **	4,01±0,16 **
		V <sub>max</sub> /K <sub>t</sub> , мкмоль/мин <sup>2</sup>	7,15 ±0,14	1,53 ±0,12*	4,82±0,11 */**	8,25±0,17 */**	5,15±0,14 */**	7,29±0,17 **
		К <sub>t</sub> , мин	0,48 ±0,02	1,36 ±0,05*	0,27±0,03 */**	0,85±0,04 */**	0,51±0,02 **	0,45±0,03 **
	Митохондрии	V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	4,55 ±0,13	2,57 ±0,06*	3,98±0,14 */**	4,13±0,12 **	4,06±0,09 */**	4,36±0,22 **
		V <sub>max</sub> /K <sub>t</sub> , мкмоль/мин <sup>2</sup>	9,48 ±0,24	1,89 ±0,10*	14,74±1,02 */**	4,86±0,23 */**	7,96±0,15 */**	9,69±0,35 **
		К <sub>t</sub> , мин	0,77 ±0,04	1,26 ±0,09*	0,80±0,05 **	0,54±0,02 */**	0,93±0,03 */**	0,63±0,04 **
Легкие	Гомогенат	V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	5,86 ±0,14	4,33 ±0,11*	6,02±0,12 **	5,37±0,14 */**	6,04±0,16 **	5,97±0,15 **
		V <sub>max</sub> /K <sub>t</sub> , мкмоль/мин <sup>2</sup>	7,61 ±0,06	4,09 ±0,04*	7,53±0,20 **	9,94±0,26 */**	6,49±0,35 */**	9,48±0,22 */**
		К <sub>t</sub> , мин	0,71 ±0,04	1,71 ±0,17*	0,69±0,03 **	1,14±0,08 */**	1,23±0,07 */**	0,98±0,07 */**
	Цитоплазма	V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	5,94 ±0,12	2,93 ±0,09*	6,11±0,14 **	4,68±0,17 */**	5,16±0,14 */**	5,75±0,13 **
		V <sub>max</sub> /K <sub>t</sub> , мкмоль/мин <sup>2</sup>	8,37 ±0,25	1,71 ±0,10*	8,86±0,23 **	4,11±0,08 */**	4,20±0,13 */**	5,87±0,11 */**
		К <sub>t</sub> , мин	0,83 ±0,05	2,33 ±0,09*	0,59±0,02 */**	0,79±0,04 **	1,56±0,07 */**	1,38±0,06 */**
	Митохондрии	V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	4,72 ±0,10	2,70 ±0,05*	4,02±0,09 */**	4,58±0,14 **	3,98±0,08 */**	5,22±0,10 */**

	$V_{\max}/K_t$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	5,69 ±0,31	1,16 ±0,09*	6,81±0,23 */**	5,79±0,16 **	2,55±0,12 */**	3,78±0,17 */**
--	---	---------------	----------------	-------------------	-----------------	-------------------	-------------------

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p<0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ ( $p<0,05$ ).

Отмечена нормализация для ЛДГпр после ингаляций NO  $K_t$  и  $V_{\max}/K_t$  в митохондриях печени,  $K_t$ ,  $V_{\max}$ ,  $V_{\max}/K_t$  в цитозоле почек, гомогенате, цитозоле легких; ДНКЖ-терапии –  $V_{\max}$  в цитозоле печени,  $K_t$  в цитозоле почек,  $K_t$ ,  $V_{\max}/K_t$  в митохондриях почек,  $V_{\max}$  в митохондриях сердца  $K_t$ ,  $V_{\max}$ ,  $V_{\max}/K_t$  в митохондриях легких; ингаляций СК –  $K_t$  и  $V_{\max}/K_t$  в митохондриях печени,  $K_t$ ,  $V_{\max}$  и  $V_{\max}/K_t$  в гомогенате сердца,  $V_{\max}$  в цитозоле сердца, гомогенате легких,  $K_t$  в митохондриях сердца; совместных ингаляций NO с ДНКЖ –  $K_t$ ,  $V_{\max}$  и  $V_{\max}/K_t$  в гомогенате печени, цитозоле, митохондриях сердца,  $K_t$  в цитозоле почек,  $K_t$  и  $V_{\max}$  в гомогенате легких,  $V_{\max}$  в цитозоле легких (табл. 89).

Для ЛДГобр  $K_t$ ,  $V_{\max}$  уменьшились,  $V_{\max}/K_t$  увеличилась в гомогенате, митохондриях печени крыс с КТТ после ингаляций NO, ДНКЖ-терапии, митохондриях печени – ингаляции СК, цитозоле почек – ингаляций NO;  $K_t$  уменьшилось,  $V_{\max}/K_t$  увеличилась в цитозоле печени после ингаляций NO, ДНКЖ-терапии, гомогенате, цитозоле печени – ингаляций СК, гомогенате, цитозоле, митохондриях печени – совместно иNO с ДНКЖ, гомогенате, митохондриях почек – ингаляций NO, гомогенате, цитозоле, митохондриях почек – ДНКЖ-терапии, ингаляций СК, совместно иNO с ДНКЖ;  $K_t$  снизилось,  $V_{\max}$ ,  $V_{\max}/K_t$  возросли в гомогенате, цитозоле, митохондриях сердца после ингаляции NO, СК, ДНКЖ-терапия, совместно иNO с ДНКЖ;  $K_t$  уменьшилось,  $V_{\max}$ ,  $V_{\max}/K_t$  увеличились в гомогенате, цитозоле, митохондриях легких после ингаляций NO, СК, ДНКЖ-терапии, гомогенате, митохондриях легких – после совместных ингаляций NO с ДНКЖ по сравнению с кинетическими показателями ЛДГобр животных с КТТ без лечения (табл. 90).

Отмечена нормализация для ЛДГобр после ингаляций NO  $V_{\max}$  в гомогенате, цитозоле печени, митохондриях легких,  $V_{\max}$  и  $V_{\max}/K_t$  в

митохондриях печени,  $V_{\max}$  в гомогенате, митохондриях почек,  $K_t$  в цитозоле почек; ДНКЖ-терапии –  $V_{\max}$  в цитозоле печени, митохондриях почек,  $K_t$ ,  $V_{\max}$ ,  $V_{\max}/K_t$  в гомогенате, цитозоле почек; ингаляций СК –  $K_t$  и  $V_{\max}$  в гомогенате печени,  $K_t$ ,  $V_{\max}$ ,  $V_{\max}/K_t$  в цитозоле печени, почек, сердца, гомогенате почек,  $V_{\max}$  в митохондриях почек, гомогенате легких,  $K_t$  в митохондриях сердца; совместно и NO с ДНКЖ–  $V_{\max}$  в гомогенате, цитозоле, митохондриях печени, почек,  $K_t$  в гомогенате сердца (табл. 90).

Таблица 90

Кинетические показатели лактатдегидрогеназы в обратной реакции в субклеточных фракциях органов здоровых крыс и животных с комбинированной термической травмой после воздействия АФК и АФА

Орган	Субклеточная фракция	Кинетический показатель	здоровые животные	животные с КТГ				
				10 сутки	+NO	+ДНКЖ	+СК	+NO +ДНКЖ
Печень	Гомогенат	$K_t$ , мин	2,03±0,05	4,39±0,14*	1,52±0,08 */**	1,48±0,04 */**	1,97±0,09 **	1,63±0,04 */**
		$V_{\max}$ , мкмоль/мин	15,87±0,20	15,93±0,21	14,79±0,63 **	15,02±1,13 */**	16,01±0,35	15,18±0,62
		$V_{\max}/K_t$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	7,82±0,11	3,63±0,07*	9,73±0,21 */**	10,15±0,32 */**	18,13±1,03 */**	9,31±0,10 */**
	Цитоплазма	$K_t$ , мин	2,14±0,12	4,57±0,23*	1,68±0,09 */**	1,72±0,06 */**	2,09±0,07 **	3,46±0,08 */**
		$V_{\max}$ , мкмоль/мин	14,32±0,09	14,31±0,15	13,75±0,58	13,92±0,87	14,56±0,46	14,08±0,53
		$V_{\max}/K_t$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	6,69±0,18	3,13±0,12*	8,18±0,22 */**	8,09±0,11 */**	6,97±0,23 **	4,07±0,09 */**
	Митохондрии	$K_t$ , мин	1,95±0,05	3,64±0,09*	1,72±0,07 */**	1,64±0,05 */**	1,58±0,06 */**	2,73±0,07 */**
		$V_{\max}$ , мкмоль/мин	15,67±0,31	15,70±0,20	14,25±1,03 **	15,03±0,12 */**	14,67±0,51 */**	15,48±0,64
		$V_{\max}/K_t$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	8,04±0,16	4,31±0,12*	8,28±0,24 **	9,16±0,21 */**	9,28±0,19 */**	5,67±0,12 */**
Почки	Гомогенат	$K_t$ , мин	1,52±0,03	3,56±0,11*	2,37±0,11 */**	1,48±0,06 **	1,55±0,04 **	1,99±0,07 */**
		$V_{\max}$ , мкмоль/мин	13,25±0,21	13,28±0,23	12,89±0,75	13,04±0,33	13,38±0,28	12,56±0,48
		$V_{\max}/K_t$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	8,72±0,20	3,73±0,13*	5,44±0,12 */**	8,81±0,12 **	8,63±0,15 **	6,31±0,11 */**
	Цитоплазма	$K_t$ , мин	1,44±0,05	2,67±0,10*	1,25±0,06 **	1,39±0,04 **	1,45±0,03 **	1,18±0,06 */**
		$V_{\max}$ , мкмоль/мин	12,75±0,20	12,80±0,33	12,06±0,31 */**	12,64±0,29	12,91±0,18	12,35±0,27
		$V_{\max}/K_t$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	8,85±0,12	4,79±0,15*	9,65±0,17 */**	9,09±0,20 **	8,90±0,16 **	10,47±0,34 */**
	Митохондрии	$K_t$ , мин	1,62±0,08	2,71±0,09*	1,34±0,05 */**	1,27±0,06 */**	1,19±0,04 */**	1,40±0,05 */**
		$V_{\max}$ , мкмоль/мин	12,89±0,34	12,85±0,17	13,12±0,67	12,95±1,03	13,06±0,37	12,78±0,61
		$V_{\max}/K_t$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	7,96±0,15	4,74±0,19*	9,79±0,53 */**	10,20±0,52 */**	10,98±0,65 */**	9,13±0,20 */**
Сердце	Гомогенат	$K_t$ , мин	0,38±0,03	1,16±0,05*	0,24±0,02 */**	0,17±0,02 */**	0,21±0,03 */**	0,30±0,02 **
		$V_{\max}$ , мкмоль/мин	8,56±0,13	4,37±0,12*	7,08±0,11 */**	7,24±0,16 */**	6,97±0,12 */**	7,56±0,14 */**
		$V_{\max}/K_t$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	22,53±0,21	3,77±0,13*	29,50±2,04 */**	42,59±2,48 */**	33,19±0,16 */**	25,20±1,46 */**

	Цитоплазма	Кт, мин	0,45±0,05	1,19±0,06*	0,21±0,02 */**	0,78±0,03 */**	0,43±0,01**	0,65±0,03 */**
		V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	9,01±0,11	4,62±0,08*	8,57±0,14 */**	6,34±0,21 */**	8,92±0,14 **	7,38±0,16 */**
		V <sub>max</sub> /Кт, мкмоль/мин <sup>2</sup>	20,02±0,31	3,88±0,20*	40,81±1,20 */**	8,13±0,11 */**	20,74±0,53 **	11,36±0,20 */**
	Митохондрии	Кт, мин	0,41±0,03	1,39±0,13*	0,22±0,01 */**	0,17±0,02 */**	0,31±0,03 **	0,94±0,05 */**
		V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	8,67±0,23	4,65±0,17*	7,56±0,09 */**	8,12±0,14 */**	7,93±0,22 */**	8,03±0,11 */**
		V <sub>max</sub> /Кт, мкмоль/мин <sup>2</sup>	21,15±0,34	3,35±0,12*	34,36±1,21 */**	47,77±1,13 */**	25,58±0,84 */**	8,54±0,20 */**
Легкие	Гомогенат	Кт, мин	0,27±0,04	0,83±0,05*	0,56±0,03 */**	0,13±0,02 */**	0,49±0,04 */**	0,15±0,02 */**
		V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	5,41±0,30	2,57±0,06*	3,89±0,09 */**	4,69±0,24 */**	5,12±0,10 **	3,98±0,06 */**
		V <sub>max</sub> /Кт, мкмоль/мин <sup>2</sup>	20,04±0,27	3,10±0,09*	6,95±0,11 */**	36,08±0,18 */**	10,45±0,27 */**	26,53±0,32 */**
	Цитоплазма	Кт, мин	0,36±0,04	0,95±0,07*	0,62±0,03 */**	0,54±0,03 */**	0,71±0,05 */**	0,88±0,04*
		V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	5,38±0,13	3,02±0,06*	4,73±0,14 */**	3,97±0,16 */**	5,02±0,10 */**	2,76±0,17*
		V <sub>max</sub> /Кт, мкмоль/мин <sup>2</sup>	14,94±0,22	3,18±0,09*	7,63±0,22 */**	7,35±0,24 */**	7,07±0,18 */**	3,14±0,05*
	Митохондрии	Кт, мин	0,32±0,03	0,84±0,03*	0,14±0,01 */**	0,57±0,03 */**	0,49±0,02 */**	0,16±0,03 */**
		V <sub>max</sub> , мкмоль/мин	4,99±0,17	2,53±0,11*	5,11±0,09 **	3,96±0,12 */**	4,27±0,13 */**	3,98±0,17 */**
		V <sub>max</sub> /Кт, мкмоль/мин <sup>2</sup>	15,59±0,23	3,01±0,013*	36,50±1,23 */**	6,95±0,21 */**	8,71±0,19 */**	24,88±0,65 */**

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами (p<0,05); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ (p<0,05).

Выявлено повышение удельной активности АДГпр и АДГобр после ингаляций NO в гомогенате, цитозоле, митохондриях органов по сравнению с активностью АДГ крыс с КТТ без лечения. После ингаляций NO активность АДГпр нормализовалась в митохондриях печени, во всех субклеточных фракциях почек, цитозоле сердца, АДГобр – в гомогенате и цитозоле почек.

Соотношение АДГпр/АДГобр снизилось у животных с КТТ после ингаляций NO в цитоплазме и митохондриях печени на 28,92% (p=0,023), в 2,2 раза (p<0,001), в гомогенате, цитозоле, митохондриях почек – на 21,11% (p=0,024), 53,08% (p=0,018), 24,32% (p=0,026), гомогенате, митохондриях сердца – на 20,73% (p=0,025), 19,79% (p=0,028), гомогенате легких – на 15,25% (p=0,036) по сравнению с показателями АДГпр/АДГобр крыс с КТТ без лечения, что свидетельствует об уменьшении высокотоксичного альдегида и накоплении этанола. После ингаляций NO АДГпр/АДГобр нормализовалось в гомогенате печени, гомогенате и митохондриях почек, сердца, всех субклеточных фракциях легких (табл. 91). Удельная активность

АДГпр при КТТ возросла после ДНКЖ-терапии в гомогенате печени, гомогенате и митохондриях почек, цитозоле и митохондриях сердца, субклеточных фракциях легких по сравнению с активностью АДГпр крыс с КТТ без лечения. Активность АДГобр увеличилась после ДНКЖ-терапии при КТТ в гомогенате, цитозоле и митохондриях печени, почек, сердца, легких по сравнению с активностью АДГобр крыс с КТТ без лечения. После воздействия ДНКЖ активность АДГпр нормализовалась в гомогенате и цитозоле печени, легких, цитозоле и митохондриях почек, всех субклеточных фракциях сердца, АДГобр – в гомогенате печени, легких, гомогенате и цитозоле сердца. Отмечено снижение АДГпр/АДГобр после ДНКЖ-терапии при КТТ в цитозоле и митохондриях печени на 34,59% ( $p=0,021$ ), в 3,6 раза ( $p<0,001$ ), гомогенате и цитозоле почек – на 26,99% ( $p=0,027$ ), 40,47% ( $p=0,018$ ), гомогенате, цитозоле, митохондриях сердца – на 23,48% ( $p=0,025$ ), 30,87% ( $p=0,016$ ), 30,21% ( $p=0,018$ ), гомогенате, цитозоле легких – на 22,87% ( $p=0,025$ ), 30,77% ( $p=0,018$ ) по сравнению с показателями АДГпр/АДГобр крыс с КТТ без лечения, способствуя нормализации АДГпр/АДГобр во всех субклеточных фракциях почек, сердца, легких (табл. 91).

Таблица 91

Удельная активность алкогольдегидрогеназы в органах здоровых крыс и животных с комбинированной термической травмой после воздействия АФК

Объект исследования	Условия эксперимента	АДГпр, нмоль НАДН/ мин×мг белка	АДГобр, нмоль НАДН/ мин×мг белка	АДГпр/АДГобр	
Печень	гомогенат	Здоровые крысы	119,224±4,113	306,444±5,213	0,389±0,004
		КТТ, 10 суток	54,022±2,017*	129,868±4,225*	0,416±0,008*
		КТТ+физ.р-р, 10сут.	55,138±1,964*	130,904±4,002*	0,421±0,007*
		КТТ+ДНКЖ	123,018±3,241**	297,890±2,170**	0,413±0,014*
		КТТ+NO	88,123±2,187*/**	223,220±3,286*/**	0,395±0,015
		КТТ+СК	89,346±4,005*/**	219,041±1,954*/**	0,408±0,018
		КТТ+ДНКЖ+NO	85,170±3,164*/**	209,770±2,753*/**	0,406±0,027
	цитоплазматическая фракция	Здоровые крысы	62,942±2,835	244,053±3,756	0,258±0,003
		КТТ, 10 суток	51,411±1,307*	97,146±2,005*	0,529±0,009*
		КТТ+физ.р-р, 10сут.	52,531±1,411*	98,257±1,994*	0,535±0,007*
		КТТ+ДНКЖ	55,590±1,628	160,584±2,481*/**	0,346±0,030*/**
		КТТ+NO	73,776±3,257*/**	196,327±4,037*/**	0,376±0,024*/**
		КТТ+СК	79,541±2,109*/**	204,819±1,585*/**	0,378±0,022*/**
		КТТ+ДНКЖ+NO	98,520±5,532*/**	253,680±4,066**	0,388±0,015*/**
	митохондриальная фракция	Здоровые крысы	59,391±2,160	133,014±2,318	0,447±0,011
		КТТ, 10 суток	41,766±1,597*	64,056±1,593*	0,652±0,018*
		КТТ+физ.р-р, 10сут.	41,889±1,423*	64,213±1,427*	0,652±0,009*
		КТТ+ДНКЖ	47,280±3,004*	261,345±2,975*/**	0,181±0,007*/**
		КТТ+NO	50,932±4,118**	169,083±3,052*/**	0,301±0,011*/**

		КТТ+СК	58,617±3,657**	137,902±2,683**	0,425±0,034**	
		КТТ+НО+ДНКЖ	54,452±2,902**	141,505±1,894*/**	0,385±0,020*/**	
Почки	гомогенат	Здоровые крысы	28,175±1,028	129,642±3,221	0,217±0,006	
		КТТ, 10 сутки	24,332±1,301	84,173±2,047*	0,289±0,007*	
		КТТ+физ.р-р, 10сут.	25,401±1,422	85,212±1,975*	0,298±0,006*	
		КТТ+ДНКЖ	35,112±3,052*/**	166,353±6,003*/**	0,211±0,010**	
		КТТ+НО	31,190±1,813**	137,105±2,252**	0,228±0,012**	
		КТТ+СК	46,745±3,421*/**	204,663±3,754*/**	0,228±0,007**	
		КТТ+ДНКЖ+НО	25,315±1,159	121,883±2,516**	0,208±0,013**	
	цитоплазматическая фракция	Здоровые крысы	59,671±2,594	286,729±4,312	0,208±0,005	
		КТТ, 10 сутки	46,772±1,985*	137,077±3,603*	0,341±0,008*	
		КТТ+физ.р-р, 10сут.	47,685±1,799*	137,995±3,872*	0,346±0,007*	
		КТТ+ДНКЖ	52,103±3,890	256,740±1,864*/**	0,203±0,010**	
		КТТ+НО	56,368±4,003**	290,695±1,955**	0,160±0,009*/**	
		КТТ+СК	56,374±2,647**	274,618±3,208**	0,205±0,012**	
		КТТ+НО+ДНКЖ	62,110±3,528**	293,990±5,032**	0,211±0,008**	
	митохондриальная фракция	Здоровые крысы	28,418±1,321	265,769±4,249	0,107±0,004	
		КТТ, 10 сутки	16,802±1,341*	113,880±2,116*	0,148±0,003*	
		КТТ+физ.р-р, 10сут.	17,913±1,586*	114,975±2,342*	0,156±0,006*	
		КТТ+ДНКЖ	26,355±3,004**	205,190±4,167*/**	0,128±0,013	
		КТТ+НО	25,303±1,918**	226,976±1,782*/**	0,112±0,008**	
		КТТ+СК	24,964±2,575**	238,743±2,099*/**	0,105±0,010**	
		КТТ+НО+ДНКЖ	25,120±3,043**	231,033±3,123*/**	0,109±0,012**	
Сердце	гомогенат	Здоровые крысы	44,710±2,566	167,371±2,044	0,267±0,004	
		КТТ, 10 сутки	37,354±1,263*	115,358±3,007*	0,328±0,010*	
		КТТ+физ.р-р, 10сут.	38,462±1,189*	116,466±2,995*	0,330±0,007*	
		КТТ+ДНКЖ	40,328±2,391	160,653±3,378**	0,251±0,014**	
		КТТ+НО	59,564±3,418*/**	228,867±3,655*/**	0,260±0,008**	
		КТТ+СК	42,314±4,007	158,977±2,092**	0,266±0,013**	
		КТТ+ДНК+НО	40,927±3,175	155,703±1,634*/**	0,263±0,021**	
	цитоплазматическая фракция	Здоровые крысы	18,756±0,964	193,773±2,569	0,097±0,003	
		КТТ, 10 сутки	14,067±0,554*	94,106±1,473*	0,149±0,006*	
		КТТ+физ.р-р, 10сут.	13,879±0,496*	93,925±1,281*	0,148±0,004*	
		КТТ+ДНКЖ	20,790±1,993**	201,526±2,518**	0,103±0,005**	
		КТТ+НО	19,996±2,016**	151,597±1,027*/**	0,132±0,010*	
		КТТ+СК	16,438±1,120**	158,365±2,084*/**	0,134±0,007*	
		КТТ+ДНКЖ+НО	17,695±2,008	177,718±1,905*/**	0,099±0,005**	
	митохондриальная фракция	Здоровые крысы	33,383±1,237	146,651±3,226	0,228±0,011	
		КТТ, 10 сутки	26,344±1,119*	91,472±1,756*	0,288±0,005*	
		КТТ+физ.р-р, 10сут.	25,402±1,223*	90,513±1,824*	0,281±0,006*	
		КТТ+ДНКЖ	36,170±3,242**	179,970±2,271*/**	0,201±0,012**	
		КТТ+НО	47,246±2,793*/**	204,363±5,023*/**	0,231±0,008**	
		КТТ+СК	30,725±3,051	135,267±4,056*/**	0,227±0,014**	
		КТТ+ДНКЖ+НО	32,721±2,460**	145,725±3,109**	0,225±0,020**	
	Легкие	гомогенат	Здоровые крысы	48,393±1,431	271,385±3,043	0,178±0,004
			КТТ, 10 сутки	33,684±0,573*	150,560±1,414*	0,223±0,008*
			КТТ+физ.р-р, 10сут.	34,723±0,612*	151,627±1,384*	0,229±0,005*
			КТТ+ДНКЖ	45,267±2,003**	263,170±1,112**	0,172±0,013**
			КТТ+НО	54,792±3,495*/**	290,462±3,055*/**	0,189±0,014**
			КТТ+СК	39,484±2,792*/**	268,547±7,130**	0,147±0,006*/**
КТТ+ДНКЖ+НО			56,250±1,067*/**	347,680±2,264*/**	0,162±0,012**	
цитоплазматическая фракция		Здоровые крысы	27,264±0,946	770,710±9,305	0,035±0,002	
		КТТ, 10 сутки	20,876±0,346*	402,193±3,158*	0,052±0,006*	
		КТТ+физ.р-р, 10сут.	20,345±0,502*	401,982±3,240*	0,051±0,004*	
		КТТ+ДНКД	25,051±2,004**	688,425±7,023*/**	0,036±0,003**	
		КТТ+НО	39,468±3,113*/**	972,970±10,128*/**	0,041±0,009	
		КТТ+СК	26,183±0,679**	743,694±4,367*/**	0,035±0,005	
		КТТ+НО+ДНКЖ	31,133±1,825*/**	815,349±9,584*/**	0,038±0,004	
митохондриальная фракция		Здоровые крысы	20,231±0,258	552,588±4,136	0,037±0,010	
		КТТ, 10 сутки	14,885±0,754*	252,843±2,755*	0,059±0,007*	

фракция	КТТ+физ.р-р, 10сут.	15,726±0,819*	253,795±2,811*	0,062±0,005*
	КТТ+ДНКЖ	34,450±2,016**/**	777,520±7,002**/**	0,044±0,008
	КТТ+NO	33,408±1,103**/**	775,331±8,263**/**	0,043±0,011
	КТТ+СК	17,864±0,598**	475,638±1,028**/**	0,038±0,003**
	КТТ+ДНКЖ+NO	16,822±1,012*	481,235±5,590**/**	0,035±0,005**

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ).

После ингаляций СК при КТТ удельная активность АДГпр увеличилась в гомогенате, цитозоле, митохондриях печени, почек, легких, цитозоле сердца, АДГобр – во всех субклеточных фракциях органов по сравнению с активностью АДГ крыс с КТТ без лечения. После ингаляций СК АДГпр нормализовалась в митохондриях печени, цитозоле и митохондриях почек, легких, всех субклеточных фракциях сердца, АДГобр – в митохондриях печени, цитозоле почек, гомогенате сердца и легких. Соотношение АДГпр/АДГобр у животных с КТТ после ингаляций СК снизилось в цитозоле и митохондриях печени на 28,54% ( $p = 0,026$ ), 34,82% ( $p = 0,017$ ), гомогенате, цитозоле, митохондриях почек – на 21,11% ( $p = 0,025$ ), 39,88% ( $p = 0,012$ ), 29,05% ( $p = 0,023$ ), гомогенате и митохондриях сердца – на 18,90% ( $p = 0,036$ ), 21,18% ( $p = 0,034$ ), гомогенате и митохондриях легких – на 34,08% ( $p = 0,027$ ), 35,59% ( $p = 0,018$ ) по сравнению с показателями АДГпр/АДГобр крыс с КТТ без лечения, способствуя нормализации АДГпр/АДГобр в гомогенате и митохондриях печени, сердца, всех субклеточных фракциях почек, цитозоле и митохондриях легких (табл. 91).

После совместного применения ДНКЖ и иNO при КТТ активность АДГпр возросла в гомогенате, цитозоле и митохондриях печени, цитозоле и митохондриях почек, митохондриях сердца, гомогенате и цитозоле легких, АДГобр – в гомогенате, цитозоле, митохондриях органов по сравнению с активностью АДГ крыс с КТТ без лечения. После совместного применения ДНКЖ и иNO активность АДГпр нормализовалась в митохондриях печени, всех субклеточных фракциях почек, сердца, АДГобр – в цитозоле печени, гомогенате и цитозоле почек, митохондриях сердца. Под влиянием совместно иNO и ДНКЖ у животных с КТТ АДГпр/АДГобр уменьшилось в цитозоле и митохондриях печени, гомогенате, цитозоле, митохондриях почек и сердца,

гомогенате и митохондриях легких – на 27,35% ( $p=0,018$ ), 40,68% ( $p=0,013$ ) по сравнению с показателями АДГпр/АДГобр крыс с КТТ без лечения, способствуя нормализации АДГпр/АДГобр в гомогенате печени, всех субклеточных фракциях почек, сердца, легких.

Для АДГпр характерна нормализация после ингаляций NO  $V_{max}$  в цитозоле печени, гомогенате почек и сердца, гомогенате, цитозоле, митохондриях легких,  $K_t$ ,  $V_{max}$ ,  $V_{max}/K_t$  для АДГпр в цитозоле сердца,  $V_{max}/K_t$  в митохондриях сердца; ДНКЖ-терапии –  $V_{max}$ ,  $K_t$ ,  $V_{max}/K_t$  в гомогенате печени, цитозоле сердца,  $V_{max}$  в митохондриях почек, сердца, легких,  $K_t$  в гомогенате сердца, гомогенате, цитозоле легких; ингаляций СК –  $V_{max}$  в гомогенате, цитозоле печени, гомогенате, митохондриях почек, цитозоле легких,  $K_t$ ,  $V_{max}$ ,  $V_{max}/K_t$  в митохондриях печени,  $K_t$  в гомогенате сердца, митохондриях легких,  $V_{max}$  и  $K_t$  в цитозоле сердца,  $K_t$  и  $V_{max}/K_t$  в митохондриях сердца, гомогенате легких; совместных ингаляций NO с ДНКЖ –  $V_{max}$  в цитозоле печени, митохондриях почек, гомогенате, цитозоле легких,  $K_t$ ,  $V_{max}$  и  $V_{max}/K_t$  в гомогенате, цитозоле, митохондриях сердца,  $K_t$  и  $V_{max}/K_t$  в митохондриях легких (табл. 92).

Таблица 92

Кинетические показатели алкогольдегидрогеназы в прямой реакции в субклеточных фракциях органов здоровых крыс и животных с комбинированной термической травмой после воздействия АФК и АФА

Орган	Субклеточная фракция	Кинетический показатель	здоровые животные	животные с КТТ				
				10 сутки	+NO	+ДНКЖ	+СК	+NO +ДНКЖ
Печень	Гомогенат	$K_t$ , мин	1,45±0,07	2,87 ±0,12*	2,16 ±0,05*/**	1,51 ±0,04**	1,93 ±0,05*/**	1,87 ±0,11*/**
		$V_{max}$ , мкмоль/мин	7,96±0,21	4,02 ±0,08*	6,75 ±0,24*/**	8,23 ±0,35**	7,24 ±0,18**	5,96 ±0,42*/**
		$V_{max}/K_t$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	5,49±0,16	1,40 ±0,03*	3,13 ±0,10*/**	5,45 ±0,27**	3,75 ±0,41*/**	3,19 ±0,08*/**
	Цитоплазма	$K_t$ , мин	1,36±0,05	2,65 ±0,24*	1,13 ±0,04*/**	2,54 ±0,13*	0,98 ±0,03*/**	1,06 ±0,06*/**
		$V_{max}$ , мкмоль/мин	8,02±0,13	5,01 ±0,16*	7,64 ±0,22**	4,86 ±0,15*	8,15 ±0,18**	7,83 ±0,31**
		$V_{max}/K_t$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	5,90±0,15	1,89 ±0,05*	6,76 ±0,35*/**	1,91 ±0,12*	8,32 ±0,24*/**	7,39 ±0,30*/**
	Митохондрии	$K_t$ , мин	1,40±0,06	2,61 ±0,20*	1,93 ±0,06*/**	2,73 ±0,20*	1,45 ±0,13**	2,16 ±0,09*/**
		$V_{max}$ , мкмоль/мин	8,13±0,09	4,85 ±0,14*	6,82 ±0,11*/**	7,45 ±0,23*/**	7,96 ±0,25**	5,79 ±0,17*/**
		$V_{max}/K_t$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	5,81±0,17	1,86 ±0,06*	3,53 ±0,07*/**	2,73 ±0,10*/**	5,49 ±0,08**	2,68 ±0,12*/**
Почки	Гомогенат	$K_t$ , мин	2,35±0,08	3,76 ±0,18*	1,86±0,09 */**	1,74±0,06 */**	1,53±0,07 */**	3,08±0,09 */**

		$V_{\max}$ , мкмоль/мин	13,75±0,31	8,34 ±0,30*	12,57±0,83 **	11,98±1,12 */**	13,04±0,76 **	9,15±0,14 */**
		$V_{\max}/Kt$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	5,85±0,12	2,22 ±0,07*	6,76±0,12 */**	6,89±0,47 */**	8,52±0,35 */**	2,97±0,23 */**
	Цитоплазма	Kt, мин	2,27±0,09	4,63 ±0,15*	4,57±0,14 *	3,52±0,10 */**	4,13±0,09 */**	3,28±0,30 */**
		$V_{\max}$ , мкмоль/мин	10,65±0,24	7,02 ±0,14*	6,84±0,16 *	8,96±0,35 */**	9,25±0,18 */**	8,67±0,42 */**
		$V_{\max}/Kt$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	4,69±0,16	1,52 ±0,05*	1,50±0,04 *	2,55±0,13 */**	2,24±0,11 */**	2,64±0,13 */**
	Митохондрии	Kt, мин	2,18±0,08	4,02 ±0,16*	2,96±0,07 */**	3,45±0,24 *	3,04±0,11 */**	3,26±0,17 */**
		$V_{\max}$ , мкмоль/мин	13,69±0,22	8,13 ±0,13*	12,67±0,32 */**	12,83±1,30 **	13,15±1,24 **	14,18±0,93 **
$V_{\max}/Kt$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>		6,28±0,10	2,02 ±0,04*	4,28±0,17 */**	3,72±0,15 */**	4,33±0,26 */**	4,35±0,16 */**	
Сердце	Гомогенат	Kt, мин	2,03±0,04	1,93 ±0,07	1,56±0,11 *	1,87±0,09	1,99±0,15	2,05±0,10
		$V_{\max}$ , мкмоль/мин	12,68±0,22	8,12 ±0,10*	11,48±1,08 **	9,52±0,47 */**	10,73±0,66 */**	12,14±0,82 **
		$V_{\max}/Kt$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	6,25±0,16	4,21 ±0,08*	7,36±0,26 */**	5,09±0,15 */**	5,39±0,27 */**	5,92±0,15 **
	цитоплазма	Kt, мин	1,99±0,03	2,05 ±0,06	1,95±0,13	1,87±0,10	2,10±0,09	2,01±0,11
		$V_{\max}$ , мкмоль/мин	12,56±0,24	7,56 ±0,24*	12,34±0,99 **	12,61±0,94 **	11,98±0,85 **	12,70±1,24 **
		$V_{\max}/Kt$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	6,31±0,15	3,69 ±0,13*	6,33±0,25 **	6,74±0,55 **	5,70±0,16 */**	6,32±0,17 **
	Митохондрии	Kt, мин	2,14±0,07	2,17 ±0,12	1,86±0,12 *	1,57±0,12 */**	1,95±0,10	2,09±0,08
		$V_{\max}$ , мкмоль/мин	11,95±0,10	6,04 ±0,09*	10,73±0,84 */**	11,84±1,05 **	9,68±0,75 */**	11,84±1,10 **
		$V_{\max}/Kt$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	5,58±0,13	2,78 ±0,13*	5,77±0,43 **	7,54±0,37 */**	4,96±0,38 **	5,67±0,33 **
Легкие	Гомогенат	Kt, мин	1,37±0,05	1,32 ±0,06	1,07±0,05 */**	1,27±0,10	1,30±0,07	0,95±0,04 */**
		$V_{\max}$ , мкмоль/мин	9,54±0,18	5,01 ±0,14*	9,81±0,56 **	7,12±0,35 */**	8,46±0,25 */**	10,04±0,68 **
		$V_{\max}/Kt$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	6,96±0,11	3,80 ±0,17*	9,17±0,20 */**	5,61±0,41 */**	6,51±0,36 **	10,57±0,59 */**
	Цитоплазма	Kt, мин	1,24±0,04	1,21 ±0,06	0,96±0,06 */**	1,19±0,08	1,03±0,06 *	0,75±0,07 */**
		$V_{\max}$ , мкмоль/мин	9,18±0,12	6,35 ±0,14*	8,75±0,24 **	7,21±0,19 */**	9,05±0,14 **	9,23±0,20 **
		$V_{\max}/Kt$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	7,40±0,20	5,25 ±0,09*	9,11±0,18 */**	6,06±0,12 */**	8,79±0,23 */**	12,31±1,24 */**
	Митохондрии	Kt, мин	1,33±0,07	1,29 ±0,05	1,08±0,05 */**	0,95±0,07 */**	1,35±0,10	1,27±0,09
		$V_{\max}$ , мкмоль/мин	10,25±0,10	7,05 ±0,15*	9,77±0,75 **	10,31±0,29 **	8,34±0,27 */**	9,06±0,30 */**
		$V_{\max}/Kt$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	7,71±0,14	5,47 ±0,12*	9,05±0,14 */**	10,85±0,76 */**	6,18±0,15 */**	7,13±0,22 **

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p<0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ ( $p<0,05$ ).

Для АДГобр наблюдалась нормализация после ингаляций NO  $V_{\max}$  в митохондриях печени, легких, гомогенате почек, сердца, легких, Kt,  $V_{\max}$ ,  $V_{\max}/Kt$  в цитозоле почек, Kt в цитозоле сердца, Kt и  $V_{\max}$  в митохондриях сердца; ДНКЖ-терапии –  $V_{\max}$ , Kt,  $V_{\max}/Kt$  в гомогенате печени,  $V_{\max}$  в митохондриях печени, сердца, легких, гомогенате почек, Kt в цитозоле

почек, сердца, легких, Kt и Vmax/Kt в гомогенате сердца, легких; ингаляций СК – Kt в цитозоле печени, сердца, митохондриях сердца, легких, Vmax в митохондриях печени, почек, гомогенате почек, Kt, Vmax/Kt и Vmax в гомогенате сердца, легких, Vmax/Kt в цитозоле легких; совместных ингаляций NO с ДНКЖ – Kt, Vmax, Vmax/Kt в цитозоле печени, почек, Vmax в митохондриях печени, гомогенате, цитозоле легких, Kt в гомогенате почек, цитозоле сердца, митохондриях легких, Vmax/Kt в гомогенате почек, Kt и Vmax в гомогенате сердца, Kt и Vmax/Kt в митохондриях сердца (табл. 93).

Таблица 93

Кинетические показатели алкогольдегидрогеназы в обратной реакции в субклеточных фракциях органов здоровых крыс и животных с комбинированной термической травмой после воздействия АФК и АФА

Орган	Субклеточная фракция	Кинетический показатель	здоровые животные	животные с КТТ				
				10 сутки	+NO	+ДНКЖ	+СК	+NO +ДНКЖ
Печень	Гомогенат	Kt, мин	2,76±0,22	5,28 ±0,09*	4,16±0,12 */**	3,02±0,07 **	3,95±0,10 */**	4,12±0,09 */**
		Vmax, мкмоль/мин	15,24±0,11	8,15 ±0,15*	9,78±0,23 */**	14,98±1,03 **	11,46±0,25 */**	13,75±0,56 */**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	5,52±0,14	1,54 ±0,08*	2,35±0,11 */**	4,96±0,35 **	2,90±0,13 */**	3,34±0,12 */**
	Цитоплазма	Kt, мин	2,53±0,06	4,76 ±0,14*	3,67±0,20 */**	4,01±0,17 */**	2,89±0,36 **	2,49±0,17 **
		Vmax, мкмоль/мин	14,96±0,32	7,85 ±0,13*	12,84±1,13 */**	11,93±1,12 */**	13,06±0,44 */**	15,13±0,58 **
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	5,91±0,11	1,65 ±0,08*	3,50±0,24 */**	2,98±0,10 */**	4,52±0,37 */**	6,08±0,14 **
	Митохондрии	Kt, мин	2,82±0,10	5,42 ±0,21*	2,13±0,11 */**	1,84±0,13 */**	3,47±0,12 */**	2,25±0,11 */**
		Vmax, мкмоль/мин	15,06±0,33	7,15 ±0,12*	14,67±1,35 **	14,93±0,86 **	15,85±0,68 **	15,16±0,89 **
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	5,34±0,12	1,32 ±0,07*	6,89±0,77 */**	8,11±0,69 */**	4,57±0,24 */**	6,74±0,36 */**
Почки	Гомогенат	Kt, мин	1,06±0,03	1,99 ±0,08*	0,73±0,04 */**	0,68±0,05 */**	0,53±0,04 */**	0,92±0,07 **
		Vmax, мкмоль/мин	7,83±0,15	5,03 ±0,11*	7,95±0,64 **	8,02±0,14 **	8,14±0,13 **	7,26±0,15 */**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	7,39±0,21	2,53 ±0,12*	10,89±0,78 */**	11,79±0,83 */**	15,36±0,69 */**	7,89±0,62 **
	Цитоплазма	Kt, мин	1,23±0,08	2,27 ±0,14*	1,34±0,09 **	1,57±0,20 **	1,76±0,12 */**	1,19±0,05 **
		Vmax, мкмоль/мин	8,15±0,09	4,83 ±0,23*	8,25±0,23 **	7,61±0,21 */**	6,93±0,38 */**	8,08±0,24 **
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	6,63±0,30	2,13 ±0,10*	6,16±0,27 **	4,85±0,15 */**	3,94±0,29 */**	6,79±0,30 **
	Митохондрии	Kt, мин	0,97±0,04	2,06 ±0,05*	1,25±0,06 */**	1,41±0,10 */**	1,37±0,10 */**	1,52±0,08 */**
		Vmax, мкмоль/мин	7,65±0,23	4,83 ±0,14*	6,73±0,25 */**	5,92±0,38 */**	7,12±0,34 **	5,84±0,16 */**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	7,89±0,15	2,34 ±0,12*	5,38±0,30 */**	4,20±0,12 */**	5,20±0,13 */**	3,84±0,20 */**
Сердце	Гомогенат	Kt, мин	0,96±0,05	0,93 ±0,04	0,75±0,04 */**	1,02±0,05	0,88±0,04	1,13±0,09
		Vmax, мкмоль/мин	5,45±0,24	2,78 ±0,10*	5,63±0,17 **	6,14±0,13 */**	5,52±0,20 **	4,97±0,24 **

		$V_{\max}/Kt$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	5,68±0,27	2,99 ±0,15*	7,51±0,20 */**	6,02±0,15 **	6,27±0,18 **	4,39±0,15 */**
	Цитоплазма	Kt, мин	0,86±0,03	0,90 ±0,05	0,75±0,06	0,92±0,08	0,82±0,05	0,95±0,04
		$V_{\max}$ , мкмоль/мин	6,02±0,14	3,72 ±0,20*	4,63±0,22 */**	5,17±0,13 */**	4,76±0,17 */**	5,25±0,17 */**
		$V_{\max}/Kt$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	7,00±0,18	4,13 ±0,11*	6,17±0,45 */**	6,38±0,27 */**	5,80±0,26 */**	5,53±0,31 */**
	Митохондрии	Kt, мин	0,92±0,06	0,97 ±0,05	0,74±0,05 */**	0,62±0,05 **	0,81±0,04 **	1,03±0,05
		$V_{\max}$ , мкмоль/мин	5,78±0,18	3,48 ±0,14*	5,53±0,12 **	6,07±0,18 **	4,52±0,31 */**	6,58±0,26 */**
		$V_{\max}/Kt$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	6,28±0,20	3,59 ±0,21*	7,47±0,21 */**	9,79±0,43 */**	5,58±0,17 */**	6,39±0,27 **
Легкие	Гомогенат	Kt, мин	0,61±0,09	0,57 ±0,06	0,35±0,01 */**	0,48±0,05	0,55±0,03	0,32±0,03 */**
		$V_{\max}$ , мкмоль/мин	3,73±0,18	1,99 ±0,10*	3,69±0,11 **	2,75±0,15 */**	3,60±0,13 **	3,58±0,17 **
		$V_{\max}/Kt$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	6,11±0,22	3,49 ±0,12*	10,54±0,47 */**	5,73±0,21 **	6,55±0,32 **	11,19±0,28 */**
	Цитоплазма	Kt, мин	0,72±0,07	0,66 ±0,04	0,53±0,02 */**	0,70±0,04	0,49±0,05 */**	0,43±0,02 */**
		$V_{\max}$ , мкмоль/мин	3,08±0,09	1,58 ±0,21*	2,64±0,06 */**	2,19±0,10 */**	1,87±0,08 *	3,15±0,11 **
		$V_{\max}/Kt$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	4,28±0,17	2,39 ±0,15*	4,98±0,13 */**	3,13±0,09 */**	3,82±0,16 **	7,33±0,21 */**
	Митохондрии	Kt, мин	0,64±0,07	0,64 ±0,05	0,43±0,03 */**	0,38±0,03 */**	0,52±0,04	0,46±0,05 **
		$V_{\max}$ , мкмоль/мин	3,85±0,13	1,77 ±0,14*	3,92±0,20 **	4,01±0,10 **	2,17±0,06 */**	2,38±0,09 */**
		$V_{\max}/Kt$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	6,02±0,11	2,77 ±0,07*	9,12±0,17 */**	10,55±0,53 */**	4,17±0,16 */**	5,17±0,15 */**

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ).

Наряду с АДГ в эритроцитах крыс с КТТ выявлена активация АлДГ под влиянием АФК, наиболее выраженная при воздействии иNO и менее выраженная при совместном использовании ДНКЖ с иNO. Удельная активность АлДГ возросла в эритроцитах при КТТ после ингаляций NO в 8,5 раза ( $p < 0,001$ ), ДНКЖ-терапии – в 6,0 раз ( $p < 0,001$ ), совместного применения ДНКЖ и иNO – в 2,7 раза ( $p < 0,001$ ), ингаляций СК – в 3,2 раза ( $p < 0,001$ ) по сравнению с показателями крыс с травмой без лечения (рис. 81).

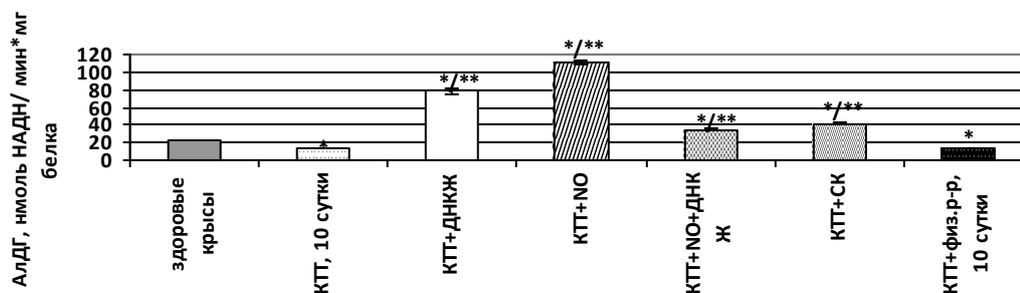


Рис. 81. Активность альдегиддегидрогеназы в эритроцитах крови крыс с КТТ после воздействия АФК и АФА

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ).

Ингаляции NO при КТТ привели к повышению удельной активности АлДГ в гомогенате, цитозоле, митохондриях печени (рис. 82), почек (рис. 83), сердца (рис. 84), легких (рис. 85) соответственно по сравнению с показателями крыс с КТТ без лечения.

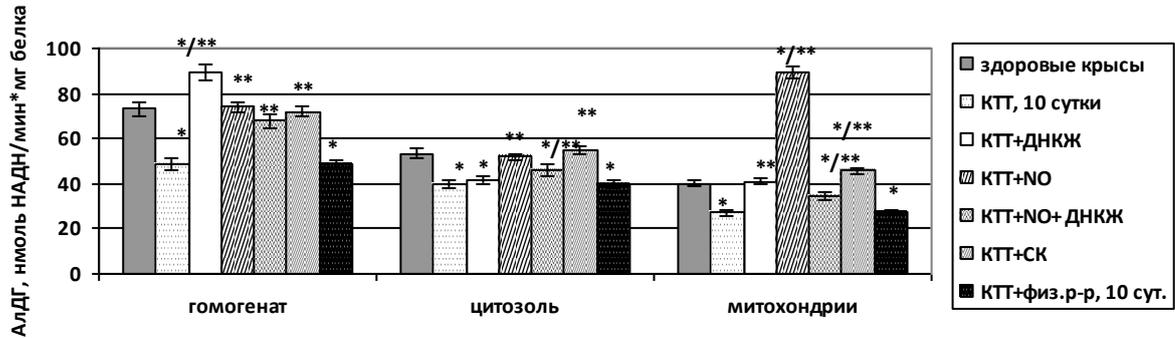


Рис. 82. Активность альдегиддегидрогеназы в печени крыс с КТТ после воздействия АФК и АФА

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ).

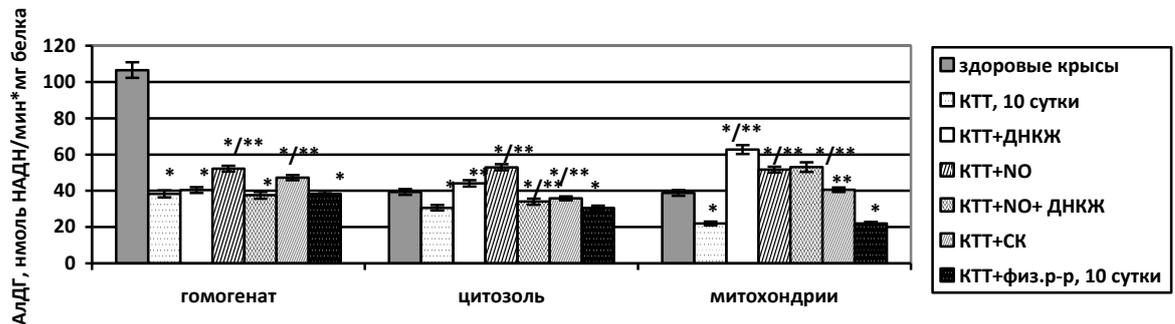


Рис. 83. Активность альдегиддегидрогеназы в почках крыс с КТТ после воздействия АФК и АФА

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ).

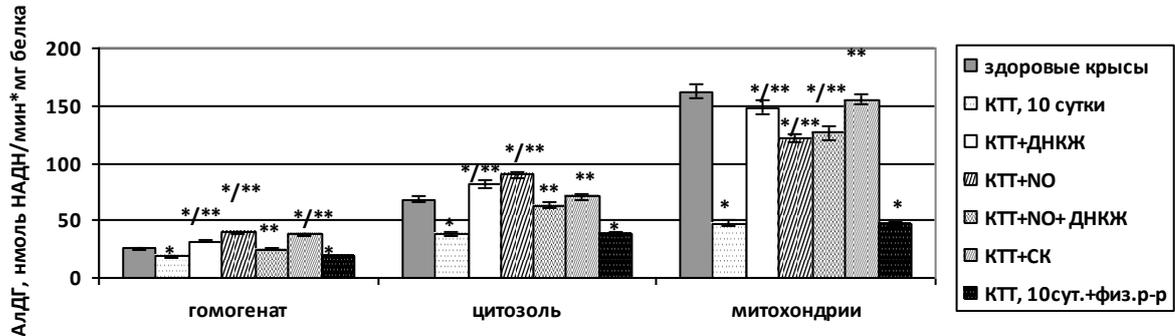


Рис. 84. Активность альдегиддегидрогеназы в сердце крыс с КТТ после воздействия АФК и АФА

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ).

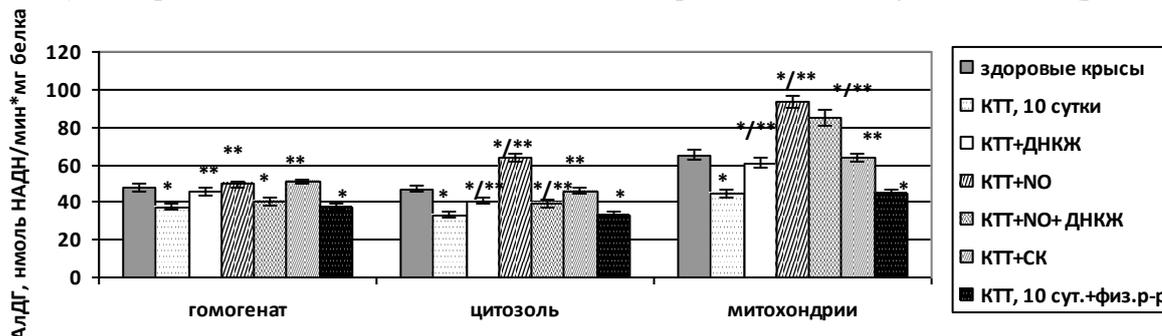


Рис. 85. Активность альдегиддегидрогеназы в легких крыс с КТТ после воздействия АФК и АФА

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ ( $p < 0,05$ ).

Под влиянием ДНКЖ, ингаляций СК при КТТ удельная активность АлДГ возросла в субклеточных фракциях органов, после совместного применения ДНКЖ и иNO при КТТ активность АлДГ увеличилась в гомогенате, цитозоле, митохондриях печени на 39,54% ( $p = 0,013$ ), 16,25% ( $p = 0,035$ ), 25,70% ( $p = 0,026$ ), сердца – на 33,85% ( $p = 0,024$ ), 65,24% ( $p = 0,006$ ), в 2,7 раза ( $p < 0,001$ ), легких – на 6,81% ( $p = 0,072$ ), 18,37% ( $p = 0,026$ ), 89,92% ( $p = 0,003$ ), цитозоле и митохондриях почек – на 11,24% ( $p = 0,037$ ), в 2,4 раза ( $p < 0,001$ ) по сравнению с показателями крыс с КТТ без лечения. Активность АлДГ нормализовалась после ингаляций NO в гомогенате и цитозоле печени, гомогенате легких, воздействия ДНКЖ – в митохондриях печени, гомогенате легких, совместного применения ДНКЖ и иNO – в гомогенате и цитозоле сердца, ингаляций СК – в гомогенате и цитозоле печени, митохондриях почек, цитозоле и митохондриях сердца, субклеточных фракциях легких.

Повышение удельной активности АлДГ в эритроцитах крови крыс с КТТ под влиянием АФК обусловлено увеличением  $V_{max}$ ,  $V_{max}/K_t$ , сродства АлДГ к субстрату реакции (снижением  $K_t$ ) по сравнению с кинетическими показателями АлДГ животных с КТТ без лечения (табл. 94).

Для АлДГ по сравнению с кинетическими показателями АлДГ животных с КТТ без лечения  $K_t$  уменьшилось,  $V_{max}$ ,  $V_{max}/K_t$  возросли в

гомогенате, цитозоле, митохондриях печени крыс с КТТ после ингаляций NO, СК, ДНКЖ-терапии, совместно и NO и ДНКЖ, гомогенате, цитозоле, митохондриях почек – после ингаляций NO, СК, ДНКЖ-терапии, цитозоле, митохондриях почек, сердца – ингаляции NO на фоне введения ДНКЖ, гомогенате, цитозоле сердца, цитозоле, митохондриях легких – ингаляций NO, гомогенате, цитозоле, митохондриях сердца – ДНКЖ-терапии, цитозоле сердца – ингаляции СК, гомогенате, цитозоле, митохондриях легких – ДНКЖ-терапии, ингаляций СК, совместно и NO с ДНКЖ; Kt уменьшилось, Vmax/Kt увеличилась в гомогенате легких после ингаляций NO (табл. 95).

Таблица 94

Кинетические показатели альдегиддегидрогеназы в эритроцитах крови здоровых крыс и животных с комбинированной термической травмой после воздействия АФК и АФА

Кинетический показатель	здоровые животные	животные с КТТ				
		10 сутки	+NO	+ДНКЖ	+СК	+NO+ДНКЖ
Kt, мин	1,24±0,09	2,19±0,21*	0,65±0,04*/**	1,03±0,03*/**	0,74±0,03*/**	0,82±0,06*/**
Vmax, мкмоль/мин	5,46±0,75	2,67±0,14*	4,38±0,02*/**	5,16±0,15**	4,09±0,34*/**	4,88±0,07**
Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	4,40±0,32	1,22±0,06*	6,74±0,85*/**	5,01±0,24**	5,53±0,18*/**	5,95±0,13*/**

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами (p<0,05); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ (p<0,05).

Таблица 95

Кинетические показатели альдегиддегидрогеназы в субклеточных фракциях органов здоровых крыс и животных с комбинированной термической травмой после воздействия АФК и АФА

Орган	Субклеточная фракция	Кинетический показатель	здоровые животные	животные с КТТ				
				10 сутки	+NO	+ДНКЖ	+СК	+NO+ДНКЖ
Печень	Гомогенат	Kt, мин	1,12±0,05	2,86±0,13*	1,09±0,07**	0,75±0,03*/**	1,10±0,06**	1,93±0,11*/**
		Vmax, мкмоль/мин	7,54±0,63	3,50±0,20*	7,74±0,23**	8,02±0,23**	8,13±0,12**	6,86±0,25**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	6,73±0,47	1,22±0,03*	7,10±0,15**	10,69±0,27*/**	7,39±0,21**	3,55±0,13*/**
	Цитоплазма	Kt, мин	1,08±0,09	1,99±0,14*	1,10±0,08**	1,52±0,10*/**	0,98±0,04**	1,47±0,06*/**
		Vmax, мкмоль/мин	6,95±0,52	3,80±0,15*	7,03±0,14**	5,24±0,12*/**	6,77±0,15**	4,91±0,09*/**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	6,44±0,38	1,91±0,05*	6,39±0,20**	3,45±0,09*/**	6,91±0,20**	3,34±0,12*/**
	Митохондрии	Kt, мин	1,18±0,07	2,52±0,21*	0,65±0,09*/**	1,24±0,03**	0,72±0,05*/**	1,85±0,07*/**
		Vmax, мкмоль/мин	7,34±0,16	4,89±0,17*	7,48±0,22**	7,38±0,26**	8,06±0,13*/**	6,24±0,18*/**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	6,22±0,30	1,94±0,06*	11,51±0,35*/**	5,95±0,13**	11,19±0,17*/**	3,37±0,06*/**
Почки	Гомогенат	Kt, мин	1,62±0,11	2,86±0,12*	2,16±0,10*/**	1,98±0,03*/**	2,06±0,08*/**	2,73±0,11*
		Vmax, мкмоль/мин	3,28±0,22	1,72±0,16*	2,54±0,22*/**	2,37±0,13*/**	2,81±0,16**	2,08±0,07*
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	2,03±0,09	0,60±0,03*	1,18±0,05*/**	1,20±0,06*/**	1,36±0,09*/**	0,76±0,04*

	Цитоплазма	Kt, мин	1,59±0,10	3,23 ±0,11*	1,22 ±0,07*/**	1,14 ±0,08*/**	2,27 ±0,12*/**	2,41 ±0,12*/**
		Vmax, мкмоль/мин	4,21±0,14	2,67 ±0,14*	4,16 ±0,13**	3,89 ±0,12**	3,48 ±0,20*/**	3,56 ±0,23*/**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	2,65±0,23	0,83 ±0,06*	3,41 ±0,21*/**	3,41 ±0,20*/**	1,53 ±0,09*/**	1,48 ±0,05*/**
	Митохондрии	Kt, мин	1,66±0,06	2,65 ±0,22*	1,24 ±0,07*/**	1,13 ±0,06*/**	1,45 ±0,05*/**	1,37 ±0,04*/**
		Vmax, мкмоль/мин	3,27±0,25	1,53 ±0,07*	3,19 ±0,14**	2,78 ±0,11*/**	4,06 ±0,09*/**	3,55 ±0,13**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	1,97±0,04	0,58 ±0,03*	2,57 ±0,15*/**	2,46 ±0,13*/**	2,80 ±0,10*/**	2,59 ±0,12*/**
Сердце	Гомогенат	Kt, мин	2,03±0,10	1,95 ±0,06	1,45 ±0,06*/**	1,39 ±0,07*/**	1,76 ±0,09	1,82 ±0,05
		Vmax, мкмоль/мин	12,58±0,47	6,97 ±0,15*	12,50 ±0,33**	13,02 ±0,30**	12,44 ±0,32**	13,16 ±0,15**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	6,19±0,23	3,57 ±0,09*	8,62 ±0,21*/**	9,37 ±0,16*/**	7,07 ±0,11*/**	7,23 ±0,12*/**
	Цитоплазма	Kt, мин	2,46±0,12	2,39 ±0,12	1,86 ±0,07*/**	1,75 ±0,08*/**	1,53 ±0,09*/**	1,68 ±0,08*/**
		Vmax, мкмоль/мин	13,05±0,33	8,04 ±0,17*	12,54 ±0,32**	13,27 ±0,19**	10,92 ±0,11*/**	9,75 ±0,24*/**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	5,31±0,16	3,36 ±0,10*	6,74 ±0,25*/**	7,58 ±0,36*/**	7,14 ±0,13*/**	5,80 ±0,16*/**
	Митохондрии	Kt, мин	2,23±0,09	2,19 ±0,07	2,04 ±0,08	1,83 ±0,05*/**	1,95 ±0,08*	1,77 ±0,05*/**
		Vmax, мкмоль/мин	13,15±0,38	7,05 ±0,23*	11,35 ±0,26*/**	8,24 ±0,17*/**	10,66 ±0,26*/**	9,15 ±0,19*/**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	5,89±0,15	3,22 ±0,11*	5,56 ±0,13**	4,50 ±0,23*/**	5,47 ±0,21**	5,17 ±0,10*/**
Легкие	Гомогенат	Kt, мин	1,71±0,08	3,18 ±0,08*	1,45 ±0,07*/**	1,23 ±0,04*/**	2,03 ±0,07*/**	2,68 ±0,13*/**
		Vmax, мкмоль/мин	4,66±0,20	3,44 ±0,14*	3,97 ±0,22*	5,16 ±0,12*/**	5,18 ±0,12*/**	3,97 ±0,15*/**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	2,73±0,07	1,08 ±0,05*	2,74 ±0,15**	4,19 ±0,15*/**	2,55 ±0,14**	1,48 ±0,06*/**
	Цитоплазма	Kt, мин	1,66±0,05	3,52 ±0,13*	1,58 ±0,06**	2,48 ±0,20*/**	2,15 ±0,07*/**	3,05 ±0,09*/**
		Vmax, мкмоль/мин	5,01±0,12	2,86 ±0,07*	5,62 ±0,31*/**	4,12 ±0,09*/**	5,88 ±0,25*/**	3,97 ±0,22*/**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	3,02±0,06	0,81 ±0,03*	3,56 ±0,17*/**	1,66 ±0,05*/**	2,74 ±0,11**	1,30 ±0,04*/**
	Митохондрии	Kt, мин	1,75±0,03	2,93 ±0,09*	1,48 ±0,06*/**	2,35 ±0,14*/**	1,80 ±0,05**	1,51 ±0,06*/**
		Vmax, мкмоль/мин	4,82±0,39	3,11 ±0,10*	5,02 ±0,14**	3,76 ±0,22*/**	4,99 ±0,27**	5,16 ±0,10**
		Vmax/Kt, мкмоль/мин <sup>2</sup>	2,75±0,11	1,06 ±0,08*	3,39 ±0,05*/**	1,60 ±0,07*/**	2,77 ±0,15**	3,42 ±0,09*/**

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами (p<0,05); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10 сутками КТТ (p<0,05).

Для АДГ наблюдалась нормализация после ингаляций NO Kt, Vmax, Vmax/Kt в гомогенате, цитозоле печени, Vmax в митохондриях печени, легких, цитозоле, митохондриях почек, гомогенате, цитозоле сердца, Kt, Vmax/Kt в митохондриях сердца, Vmax/Kt в гомогенате легких, Kt в цитозоле легких; ДНКЖ-терапии – Vmax в гомогенате печени, цитозоле почек, гомогенате, цитозоле сердца, Kt, Vmax, Vmax/Kt в митохондриях печени; ингаляций СК – Kt, Vmax, Vmax/Kt в гомогенате, цитозоле печени,

митохондриях легких,  $V_{\max}$  в гомогенате почек,  $K_t$  и  $V_{\max}$  в гомогенате сердца,  $V_{\max}/K_t$  в митохондриях сердца, гомогенате, цитозоле легких; совместных ингаляций NO с ДНКЖ –  $V_{\max}$  в гомогенате печени, митохондриях почек, легких,  $K_t$  и  $V_{\max}$  в гомогенате сердца (табл. 95).

Таким образом, учитывая способность АФК активно выступать в роли антиоксидантов, активировать ферменты, нормализуя энергетический метаболизм, как по пути гликолиза, так и окислительного фосфорилирования, очевидна эффективность действия АФК и АФА как компонентов фармакотерапии при лечении ОС, развивающегося при ТТ.

Полученные результаты свидетельствовали об ингибировании СРО в крови и исследуемых паренхиматозных органах при ожоге под влиянием используемых АФК, что обусловлено их антиоксидантными свойствами. Минимальное снижение СРО в органах при КТТ отмечено под влиянием совместного применения ДНКЖ и иNO. Максимальное уменьшение СРО при КТТ выявлено под влиянием ДНКЖ, при этом органы располагались по степени снижения в них СРО: легкие > сердце > печень > почки.

Выявлена стимуляция энергетического обеспечения митохондрий при КТТ под влиянием АФК, что свидетельствует об активации сукцинатзависимого дыхания в митохондриях, цикла лимонной кислоты. По выраженности роста активности СДГ при КТТ под влиянием исследуемых АФК органы располагались: легкие > сердце > почки > печень. По степени воздействия на активность СДГ исследуемые АФК располагались: СК (максимальный рост СДГ) > ДНКЖ > NO > NO+ДНКЖ. По выраженности роста активности цитохром *c* оксидазы под влиянием АФК органы располагались: почки > печень > сердце > легкие. По степени воздействия на активность цитохром *c* оксидазы АФК располагались: NO (максимальное повышение) > ДНКЖ > СК > NO+ДНКЖ. АФК при КТТ активировали ЛДГ во всех субклеточных фракциях органов по сравнению с активностью фермента у крыс с КТТ без лечения. Исследуя КБЭР, улучшение

энергетического метаболизма под влиянием АФК наиболее выражено в печени, почках и легких, в меньшей степени – в сердце крыс с КТТ.

Повышение активности СДГ, цитохром *c* оксидазы, ЛДГ способствует стимуляции в клетке аэробного окисления, энергетического обмена клетки, вероятно, вследствие стимуляции работы электронного транспорта в мембране митохондрий. Показано стимулирующее влияние АФК на активность АДГ в субклеточных фракциях органов.

Применение АФК и АФА при КТТ имело нормализующий эффект на биохимические показатели крови и органов: ОАА, активность цитохром *c* оксидазы, СДГ каталазы, ГР, уровень лактата, МДА, активность АДГпр, АДГпр/АДГобр, Kt, Vmax и Vmax/Kt оксидоредуктаз. АФК при КТТ привели к нормализации углеводного метаболизма, проявляющееся в уменьшении уровня лактата и глюкозы в крови вследствие активации аэробного гликолиза. АФК вызвали снижение признаков КС, обусловленное повышением активности немикросомальных ферментов, АДГ и АлДГ.

### **3.3.3. Механизм действия динитрозильных комплексов железа на активность альдегиддегидрогеназы**

Следующим этапом работы было установление вероятного механизма активации АлДГ под влиянием NO (на примере ДНКЖ) в опытах с тетурамом (антабус, дисульфирам, N,N,N,N-тетраэтилтиурамдисульфид), ингибитором АлДГ, который свободно взаимодействует с ионами металлов благодаря наличию в его молекуле R<sub>2</sub>NCS<sub>2</sub> – группы, образуя комплексные соединения [675]. Тетурам и N,N-диэтилдитиокарбамат натрия (ДЭДКН) ингибируют ферменты окисления алкоголя в печени животных [33; 58; 352; 456; 461; 624]. Вещества, содержащие SH-группы (глутатион и цистеин), акцепторы и донаторы электронов (НАД, аскорбиновая кислота, метиленовый синий), препятствуют ингибирующему влиянию тетурама на АлДГ [352]. По данным литературы, под влиянием тетурама активность АлДГ в митохондриях печени крыс начинает снижаться через 2 часа, достигая максимума (на 76-85%) к 16-40ч от начала введения [662], в

результате замедляется процесс превращения ацетальдегида в уксусную кислоту [352; 702].

Отмечено отсутствие роста активности АлДГ под влиянием ДНКЖ при добавлении тетурама к консервированной крови перед ДНКЖ (I серия эксперимента). При добавлении тетурама перед инкубацией с ДНКЖ удельная активность АлДГ оказалась ниже активности фермента крови с физиологическим раствором на 32,7% ( $p=0,018$ ) и ниже в 2,7 раза ( $p<0,001$ ) по сравнению с АлДГ крови после инкубации с ДНКЖ. Инкубация крови с тетурамом также вызвала ингибирование активности АлДГ на 38,37% ( $p=0,012$ ), при активации АлДГ под влиянием ДНКЖ на 83,55% ( $p=0,010$ ) по сравнению с контролем (консервированная кровь + физ. р-р) (рис. 86).

Проведенный эксперимент (II серия) показал, что введение интактным крысам тетурама сопровождалось снижением активности АлДГ (36,76% ( $p=0,014$ )),  $V_{max}/K_t$  АлДГ (31,61% ( $p=0,017$ )) и повышением  $K_t$  (43,90% ( $p=0,021$ )) по сравнению с показателями контрольных крыс, которым вводили физиологический раствор (табл. 97). Таким образом, под влиянием тетурама у здоровых крыс произошло уменьшение удельной активности АлДГ по типу конкурентного ингибирования ( $K_t^1 > K_t^0$ ,  $V^1 = V^0$ ).

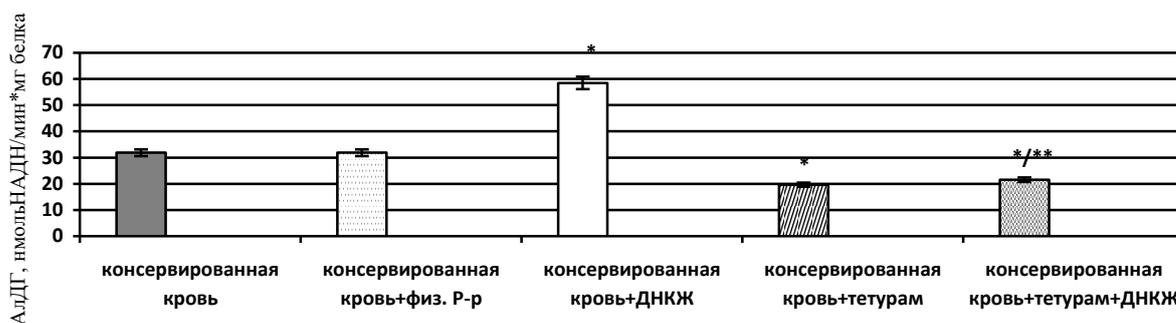


Рис. 86. Активность альдегиддегидрогеназы в консервированной крови пациентов-доноров после воздействия ДНКЖ и тетурама

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с группой «консервированная кровь+физ. р-р» ( $p<0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с группой «консервированная кровь+ДНКЖ» ( $p<0,05$ ).

Под влиянием ДНКЖ в эритроцитах здоровых крыс возросли удельная активность (в 2,1 раза ( $p<0,001$ )) и  $V_{max}/K_t$  (78,48% ( $p=0,012$ )) АлДГ,  $K_t$  АлДГ уменьшилось на 38,21% по сравнению с показателями контроля (+физ.

p-p). Предварительное введение тетурама здоровым крысам перед инъекциями ДНКЖ сопровождалось повышением активности АлДГ по сравнению с введением тетурама интактным крысам на 13,17% ( $p=0,042$ ), но активность АлДГ осталась ниже активности АлДГ контрольной группы (+ физ. p-p) и животных, которым вводили ДНКЖ на 28,43% ( $p=0,019$ ) и в 3,0 раза ( $p<0,001$ ) соответственно. Снижение активности АлДГ при предварительном введении тетурама перед ДНКЖ по сравнению с группами «здоровые крысы+физ. p-p» и «здоровые крысы+ДНКЖ» произошло по типу конкурентного ингибирования ( $Kt^1>Kt^0$ ,  $V^1=V^0$ ) и сопровождалось повышением  $Kt$  на 56,10% ( $p=0,023$ ) и в 2,5 раза ( $p<0,001$ ) и снижением  $V_{max}/Kt$  на 33,41% ( $p=0,025$ ) и в 2,7 раза ( $p<0,001$ ) соответственно.

Тетурам у крыс с КТТ ингибировал активность АлДГ по смешанному типу ( $Kt^1>Kt^0$ ,  $V^1<V^0$ ) на 44,63% ( $p=0,012$ ) на фоне показателя здоровых животных (+ физ. p-p), но при введении тетурама крысам с КТТ активность АлДГ не отличалась от активности АлДГ крыс с КТТ. Под влиянием тетурама на фоне КТТ  $V_{max}/Kt$  для АлДГ была ниже по сравнению с показателями здоровых крыс (+физ. p-p) и крыс с КТТ (+физ. p-p) в 6,2 раза ( $p<0,001$ ) и на 40,98% ( $p=0,009$ ) соответственно,  $Kt$  при воздействии тетурама у крыс с КТТ возросло в 3,1 раза ( $p<0,001$ ) по сравнению с показателем контрольных крыс, которым вводили физиологический раствор, и на 77,66% по сравнению  $Kt$  крыс с КТТ (+физ. p-p) (табл. 96).

Инактивация АлДГ при КТТ может происходить под влиянием увеличивающейся концентрации эндотоксинов: во-первых, соединений, формирующих ковалентные связи с SH-группами (ареноксиды, возникающие при окислении ароматических углеводородов и активирующие при этом ПОЛ биологических мембран; N-оксиды; нитрозамины; гидроксиламины), во-вторых, веществ, содержащих SH-группы, с более низкой, чем у белков, молекулярной массой (мочевина, аминокислоты, цистеин, цистин) [197; 352].

Под влиянием ДНКЖ в эритроцитах крыс с КТТ (III серия эксперимента) активность АлДГ возросла в 6,0 раза ( $p<0,001$ ) по сравнению с

активностью АлДГ при КТТ (+физ. р-р) и в 3,5 раза по сравнению с показателем здоровых крыс (+физ. р-р).  $V_{max}/K_t$  АлДГ после воздействия ДНКЖ при КТТ увеличилась в 4,1 раза ( $p < 0,001$ ),  $K_t$  уменьшилось в 2,2 раза ( $p < 0,001$ ) по сравнению с показателями крыс с КТТ (+физ. р-р).

Предварительное введение тетурама перед ДНКЖ крысам с КТТ не вызвало повышения активности АлДГ по сравнению с АлДГ крыс с КТТ (+физ. р-р), активность АлДГ при этом не отличалась от показателя крыс группы «КТТ + тетурам» и была ниже активности АлДГ в группах «здоровые крысы + физ. р-р» (смешанное ингибирование ( $K_t^1 > K_t^0$ ,  $V^1 < V^0$ )) и «КТТ + ДНКЖ» (смешанное ингибирование ( $K_t^1 > K_t^0$ ,  $V^1 < V^0$ )) на 41,22% ( $p = 0,013$ ) и в 5,9 раза ( $p < 0,001$ ) соответственно.

Однако предварительное введение тетурама перед инъекциями ДНКЖ крысам с КТТ вызвало повышение  $K_t$  по сравнению с группами «здоровые крысы + физ. р-р», «КТТ + физ. р-р», «КТТ + ДНКЖ» в 2,4 раза ( $p < 0,001$ ), на 33,03% ( $p = 0,027$ ), в 2,9 раза ( $p < 0,001$ ), соответственно. Предварительное введение тетурама перед инъекциями ДНКЖ крысам с КТТ сопровождалось снижением  $V_{max}/K_t$  по сравнению с показателем крыс в группах «здоровые крысы + физ. р-р», «КТТ + физ. р-р», «КТТ + ДНКЖ» в 4,4 раза ( $p < 0,001$ ), 17,21% ( $p = 0,034$ ) и в 5,0 раз ( $p < 0,001$ ), но повышением на 40,28% ( $p = 0,016$ ) по сравнению с  $V_{max}/K_t$  АлДГ крыс «КТТ + тетурам» (табл. 96).

Таблица 96

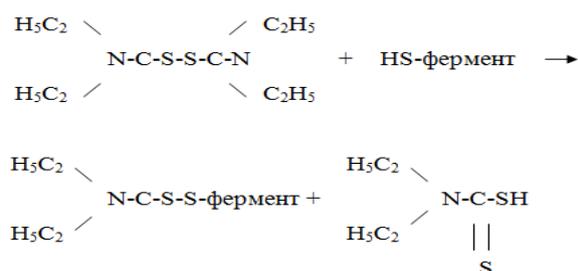
Активность и кинетические свойства альдегиддегидрогеназы в эритроцитах крови здоровых крыс и крыс с КТТ под влиянием ДНКЖ и тетурама

Условия эксперимента	Показатели			
	Активн., нмоль НАДН/мин×мг белка	$K_t$ , мин	$V_{max}$ , мкмоль/мин	$V_{max}/K_t$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>
Здоровые крысы	22,359±0,947	1,24±0,09	5,46±0,75	4,40±0,32
Здоровые крысы +физ. р-р	22,404±0,853	1,23±0,03	5,49±0,16	4,46±0,18
Здоровые крысы + ДНКЖ	47,963±0,872*	0,76±0,03*	6,05±0,27	7,96±0,24*
Здоровые крысы +тетурам	14,168±0,257*/***	1,77±0,09*/***	5,39±0,20	3,05±0,08*/***
Здоровые крысы +тетурам +ДНКЖ	16,034±0,795*/&/***	1,92±0,07*/***	5,71±0,26	2,97±0,10*/***
КТТ, 10 стужи	13,014±0,228*	2,19±0,21*	2,67±0,14*	1,22±0,06*
КТТ + физ. р-р	12,987±0,305*	2,21±0,15*	2,69±0,20*	1,22±0,05*
КТТ + ДНКЖ	78,132±3,427*/**/***	1,03±0,03*/**	5,16±0,15**	5,01±0,24**
КТТ + тетурам	12,405±0,369*/&	3,86±0,12*/**/∧/∧	2,79±0,16*/&	0,72±0,04*/**/∧/∧
КТТ + тетурам + ДНКЖ	13,169±0,407*/&/∧/***	2,94±0,05*/**/***/&/∧/#	2,98±0,22*/∧	1,01±0,03*/**/∧/#

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с группой «здоровые крысы+физ. р-р» ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с 10

сутками КТТ ( $p < 0,05$ ); \*\*\* - различия статистически значимы по сравнению с группой «здоровые крысы+ДНКЖ» ( $p < 0,05$ ); & - различия статистически значимы по сравнению с группой «здоровые крысы+тетурам» ( $p < 0,05$ ); ^ - различия статистически значимы по сравнению с группой «КТТ+ДНКЖ» ( $p < 0,05$ ); # - различия статистически значимы по сравнению с группой «КТТ+тетурам» ( $p < 0,05$ ).

Поскольку предварительное введение тетурама перед ДНКЖ не вызвало повышения активности АлДГ, поэтому можно предположить, что ДНКЖ активирует АлДГ путем связывания с SH-группами в активном центре фермента. Реакция взаимодействия тетурама с SH-группами ферментов выглядит следующим образом:



Таким образом, активность АлДГ повышается под влиянием ДНКЖ путем их связывания с сульфгидрильными группами в активном центре фермента. Известно, что под влиянием NO окисляются тиолы с образованием нитрозотиолов [45; 678], что сказывается на содержании SH-групп в крови [122], а, следовательно, приводит к снижению их протекторной активности.

Показано стабильное понижение уровня SH-групп в периферической крови животных после термического воздействия [10; 122]. Изменения SH-групп в очаге при ТТ носили более тяжелый характер, чем в крови, отражая тяжелые метаболические нарушения в ране. Выраженное и длительное снижение сульфгидрильных групп в ожоговой ране свидетельствует о разрушении белков, аминокислот, пуриновых и пиримидиновых оснований, РНК, ДНК, об изменении синтеза и свойств структурных белков [122]. Согласно данным литературы, ожог сопровождается активацией образования свободных радикалов кислорода и NO [91], которые активируют ПОЛ и другие механизмы тканевого повреждения. В работе Т.В. Звягинцевой и др. [122] показано, что у животных с ТТ содержание метаболитов NO в сыворотке крови увеличено на протяжении первых 3 недель после травмы с

максимумом на 3 сутки. В очаге при ТТ увеличение содержания метаболитов NO более выраженное и длительное – на протяжении 28 суток.

Под влиянием ранозаживляющих лекарственных средств с разным механизмом действия, оказывающих протекторное действие на SH-группы, происходило восстановление концентрации метаболитов NO (к 14 сут) как в очаге, так и периферической крови, SH-групп в очаге (28 сут), что сопровождалось более благоприятным течением раневого процесса и выраженным уменьшением площади ожоговой раны [122].

Участие эндогенного NO в патологическом процессе включает ряд основных механизмов: антибактериальное действие; ингибирование СРО и активация АОС; нормализация микроциркуляции, улучшение сосудистой трофики, тканевого обмена благодаря вазодилатации, антиагрегантных и антикоагулянтных свойств NO; иммунокоррекция; регуляция синтеза коллагена, апоптоза; индукция пролиферации фибробластов, кератиноцитов, синтеза белка и эпителизации раневого дефекта [61; 851; 856].

За время жизни NO *in vivo* (5-30 сек), происходит его взаимодействие со своими мишенями (тиолами и переходными металлами) или окисление NO до нитрата и нитрита (цитохром *c* оксидазой), или образование АФА (нитрозоний, нитроксил, пероксинитрит). К условиям, влияющим на время жизни NO, можно отнести активацию СРО (например, в условиях гипоксии) [231; 265; 295; 296; 831]. NO является одним из ключевых факторов в патофизиологии ОС [338]. Избыточная продукция NO под влиянием *i*NOS – важное звено в патогенезе тяжелой сочетанной травмы, острой недостаточности кровообращения при различных видах шока [296; 567]. Таким образом, определение концентрации NO в крови и тканях органов при ТТ может иметь прогностическую ценность в динамике развития экспериментального ожога и при лечении АФК.

### **3.3.4. Влияние ингаляций синглетного кислорода на биохимические показатели крови больных с термической травмой**

У пациентов с ТТ отмечено повышение СРО в крови. В плазме и эритроцитах показатель S увеличился на 52,66 % ( $p=0,026$ ), 26,48% ( $p=0,034$ ), концентрация МДА – на 54,88% ( $p=0,018$ ), 8,56% ( $p=0,037$ ) соответственно по сравнению с показателями здоровых людей (табл.97). В развитии системной полиорганной недостаточности при ТТ одну из ключевых ролей играет несостоятельность механизмов кислородного транспорта [69; 100].

Таблица 97

Показатели свободнорадикального окисления в крови пациентов с ТТ  
после ингаляций СК

Условия эксперимента	S в плазме, усл.ед.	S в эритроцитах, усл.ед.	МДА в плазме, мкмоль/л	МДА в эритроцитах, мкмоль/л
Здоровые люди	9,952±0,561	8,614±0,253	1,024±0,023	6,003±0,071
ТТ	15,193±0,764*	10,895±0,463*	1,586±0,131*	6,517±0,284*
ТТ+СК	10,758±0,643**	8,257±0,083**	0,927±0,048**	6,348±0,114*

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению со здоровыми людьми ( $p<0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с ТТ ( $p<0,05$ ).

После 10 дневного курса ингаляций СК в крови ожоговых больных выявлена нормализация окислительно-восстановительного баланса [100], индуцированной биохимиллюминесценции, уровня МДА в плазме. Показатель S снизился в плазме и эритроцитах на 29,19% ( $p=0,033$ ), 24,21% ( $p=0,038$ ), концентрации МДА уменьшилась в плазме на 41,56% ( $p=0,039$ ) под воздействием ингаляций СК по сравнению с показателями при ТТ. Отмечена тенденция к снижению концентрации МДА в эритроцитах.

По данным литературы при ТТ уменьшается антиокислительная активность, отмечен дефицит белковых и низкомолекулярных АО [69; 100]. При КТТ выявлено снижение ОАА в плазме крови, активности СОД, каталазы, ГР, Гл-6-фДГ на 11,50% ( $p=0,037$ ), 31,53% ( $p=0,037$ ), 32,75% ( $p=0,032$ ), 21,62% ( $p=0,041$ ), 39,61% ( $p=0,026$ ) по сравнению с показателями здоровых людей (табл. 98). 10-дневный курс ингаляций СК привел к нормализации ОАА в плазме крови.

Таблица 98

Показатели антиоксидантной системы защиты крови пациентов с ТТ  
после ингаляций СК

Условия эксперимента	tg2a, усл.ед.	СОД, %инг./мин×мг белка	Каталаза, мкмольH <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /мин ×мг белка	ГР, нмоль НАДФН/мин ×мг белка	Гл-6-фДГ, нмоль НАДФН/мин×мг белка
Здоровые люди	0,748±0,021	917,450±9,246	41,823±4,657	79,273±3,856	52,384±3,571

ТТ	0,662±0,010*	628,193±12,104*	28,544±1,263*	62,137±1,125*	31,639±1,214*
ТТ+СК	0,725±0,008**	1078,689±16,075*/**	39,725±2,705**	64,319±2,036*	35,091±2,207*

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению со здоровыми людьми ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с ТТ ( $p < 0,05$ ).

Отмечено повышение концентрации глюкозы при ТТ на 73,45% ( $p = 0,016$ ) по сравнению со здоровыми донорами (табл. 99), вероятно, вследствие нейрогенного воздействия на глюкокортикоидную активность коры надпочечников [179], в итоге усиливается гликогенолиз и глюконеогенез, приводя к метаболической перестройке в организме. В то же время периферические ткани выбрасывают большие количества лактата в системный кровоток для синтеза глюкозы в печени [259; 430]. Было зафиксировано резкое возрастание лактата в плазме крови на 80% ( $p = 0,024$ ) по сравнению с усредненным показателем практически здоровых людей.

Повышение концентрации лактата, одного из маркеров гипоксии, в крови при ТТ обусловлено снижением удельной активности ЛДГ в прямой и обратной реакциях, КБЭР на 32,20% ( $p = 0,023$ ), 16,03% ( $p = 0,038$ ), 34,80% ( $p = 0,026$ ) соответственно по сравнению с показателями здоровых людей, что свидетельствовало о нарушении энергетического метаболизма при ТТ. При ТТ выявлено также снижение удельной активности АлДГ в 3,9 раза ( $p < 0,001$ ) по сравнению с активностью фермента у здоровых людей (табл. 99).

Таблица 99

Концентрация глюкозы и лактата, активность оксидоредуктаз в крови пациентов с ТТ после ингаляций СК

Условия эксперимента	ЛДГпр, нмоль НАДН/мин×мг белка	ЛДГобр, нмоль НАДН/мин×мг белка	КБЭР	Лактат в плазме крови, ммоль/л	Глюкоза в плазме крови, ммоль/л	АлДГ, нмоль НАДН/мин×мг белка
Здоровые люди	76,892 ±4,365	315,325 ±14,087	5,949 ±0,483	1,65±0,45	4,03±1,18	22,673 ±3,018
ТТ	52,136±2,205*	264,783±9,015*	3,879 ±0,355*	2,97±0,38*	6,99±0,42*	5,846 ±0,235 *
ТТ+СК	69,879 ±3,023**	303,146 ±11,095**	5,325±0,296**	1,86±0,29**	5,78±1,09	13,552 ±2,683*/**

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению со здоровыми людьми ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с ТТ ( $p < 0,05$ ).

Уменьшение удельной активности СОД, каталазы, ЛДГ, АлДГ в эритроцитах при ТТ сопровождалось снижением  $V_{max}$ ,  $V_{max}/K_t$ , повышением  $K_t$  по сравнению с показателями здоровых людей. Для реакций,

катализируемых ГР и Гл-6-фДГ, было характерно снижение  $V_{\max}$  и  $V_{\max}/K_t$  при ТТ (табл. 100).

Таблица 100

Кинетические показатели ферментов системы биотрансформации  
в крови пациентов с ТТ после ингаляций СК

Фермент	Кинетический показатель	здоровые люди	ТТ	ТТ+СК
СОД	Kt, мин	2,27±0,06	3,81±0,19*	1,68±0,11*/**
	$V_{\max}$ , мкмоль/мин	7,94±0,15	5,24±0,21*	7,23±0,12*/**
	$V_{\max}/K_t$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	3,50±0,12	1,37±0,13*	4,30±0,25*/**
Каталаза	Kt, мин	1,06±0,04	1,73±0,09*	1,13±0,05**
	$V_{\max}$ , мкмоль/мин	7,99±1,12	5,28±0,33*	6,53±0,28**
	$V_{\max}/K_t$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	7,54±0,83	3,05±0,12*	5,78±0,56*/**
ГР	Kt, мин	0,89±0,07	0,96±0,08	0,58±0,16**
	$V_{\max}$ , мкмоль/мин	8,21±0,75	5,13±0,12*	5,34±0,12*
	$V_{\max}/K_t$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	9,22±0,68	5,34±0,41*	9,21±1,03**
Гл-6-фДГ	Kt, мин	0,74±0,05	0,69±0,07	0,72±0,05
	$V_{\max}$ , мкмоль/мин	6,88±0,73	4,27±0,11*	6,56±0,48**
	$V_{\max}/K_t$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	9,29±1,02	6,19±0,23*	9,11±0,93**
ЛДГпр	Kt, мин	1,96±0,04	2,85±0,13*	2,05±0,12**
	$V_{\max}$ , мкмоль/мин	10,87±1,13	6,34±1,10*	8,75±0,63**
	$V_{\max}/K_t$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	5,55±0,64	2,22±0,10*	4,27±0,29*/**
ЛДГобр	Kt, мин	2,83±0,15	4,02±0,14*	3,13±0,15**
	$V_{\max}$ , мкмоль/мин	9,97±1,24	5,68±0,59*	7,28±0,34*/**
	$V_{\max}/K_t$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	3,52±0,37	1,41±0,08*	2,33±0,12*/**
АлДГ	Kt, мин	1,32±0,09	2,15±0,26*	1,67±0,08*/**
	$V_{\max}$ , мкмоль/мин	6,04±0,35	4,37±0,45*	5,83±0,72**
	$V_{\max}/K_t$ , мкмоль/мин <sup>2</sup>	4,58±0,29	2,03±0,06*	3,49±0,09*/**

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению со здоровыми людьми ( $p<0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с ТТ ( $p<0,05$ ).

СКТ привела к нормализации активности ЛДГ и концентрации лактата, содержание которого снизилось на 37,37% ( $p=0,018$ ) (табл. 99), что обусловлено повышением активности ЛДГпр и ЛДГобр на 34,03% ( $p=0,032$ ), 14,49% ( $p=0,041$ ) по сравнению с активностью ЛДГ пациентов с ТТ без лечения. Таким образом, СКТ способствовала нормализации энергетического метаболизма крови, о чем свидетельствовало повышение КБЭР на 37,28% ( $p=0,026$ ) по сравнению с КБЭР крови пациентов с ТТ без лечения. Однако, концентрация глюкозы после воздействия СКТ незначительно снизилась на 17,31% ( $p=0,097$ ) по сравнению с показателем пациентов без лечения. СКТ оказала активирующее влияние на АлДГ, повысив ее активность в 2,32 раза ( $p<0,001$ ) по сравнению с показателем пациентов с ТТ без лечения.

Рост активности СОД, каталазы, ЛДГ, АлДГ в эритроцитах после СКТ при ТТ обусловлен повышением  $V_{\max}$ ,  $V_{\max}/K_t$ , снижением Kt по сравнению с показателями пациентов без лечения. Под влиянием СКТ для ГР

выявлено снижение  $K_t$ , повышение  $V_{max}/K_t$ , для Гл-6-фДГ – увеличение  $V_{max}$  и  $V_{max}/K_t$  (табл. 100).

Таким образом, у пациентов с ТТ в крови подтверждено повышение СРО на фоне снижения антиокислительной активности, формируя условия для возникновения ОС. При ТТ выявлена гипергликемия и лактатацидоз, обусловленный ингибированием ЛДГ. Уменьшение удельной активности оксидоредуктаз при ТТ сопровождалось снижением  $V_{max}/K_t$ , сродства ферментов к субстратам реакции. Выявлен благоприятный эффект применения 10 дневного курса СКТ у больных с ТТ: нормализация АОС, энергетического и окислительно-восстановительного баланса в крови, концентрации лактата, активация ЛДГ, АлДГ, антиоксидантных ферментов, обусловленная изменением кинетических показателей ферментов.

### **Выводы по главе 3.3.**

1. Отмечено ингибирование показателя S и МДА в плазме и эритроцитах крови, органах при КТТ под влиянием АФК.

2. иNO, ДНКЖ, СК, ДНКЖ + иNO при КТТ активировали СОД, каталазу, ГР и Гл-6-фДГ в эритроцитах при КТТ.

3. Удельная активность СОД возросла в субклеточных фракциях всех органов под влиянием исследуемых АФК, каталазы – в субклеточных фракциях сердца и печени под влиянием ингаляций NO, ГР – в субклеточных фракциях сердца и легких после СК, Гл-6-фДГ – в субклеточных фракциях почек и легких под влиянием СК.

4. АФК и АФА при КТТ в субклеточных фракциях печени, легких, почек, сердца для СОД, Гл-6-фДГ вызвали повышение  $V_{max}$  и  $V_{max}/K_t$ , для каталазы – рост  $V_{max}/K_t$ , для ГР – снижение  $K_t$ , увеличение  $V_{max}$ ,  $V_{max}/K_t$ . Максимальное повышение  $V_{max}/K_t$  под влиянием АФК и АФА при КТТ выявлено для СОД, Гл-6-фДГ в легких, для каталазы, ГР – в сердце.

5. Выявлено повышение ОАА во всех субклеточных фракциях печени под влиянием ДНКЖ, иNO, СК, почек – после применения ДНКЖ, иNO, сердца – после совместного применения ДНКЖ и иNO, легких – под

воздействием СК, ДНКЖ и совместно ДНКЖ и иNO. В легких максимальная активация ОАА выявлена после ингаляций NO.

6. Ингаляции NO при КТТ вызвали повышение активности СДГ в митохондриях почек, сердца и легких, ДНКЖ, СК – в митохондриях всех исследуемых органов, ДНКЖ + иNO – в митохондриях сердца и легких. После ингаляций NO, СК, ДНКЖ активность цитохром *c* оксидазы возросла в митохондриях печени, почек, сердца, легких, после ДНКЖ + иNO – в митохондриях печени и легких.

7. Применение всех АФК при КТТ способствовало снижению Kt и росту  $V_{max}/Kt$  СДГ и цитохром *c* оксидазы в митохондриях исследуемых паренхиматозных органов. Максимальный рост  $V_{max}/Kt$  под влиянием АФК выявлен для цитохром *c* оксидазы в митохондриях легких, СДГ – почек.

8. Отмечено снижение концентрации лактата и глюкозы в плазме и эритроцитах крови крыс с КТТ после применения АФК.

9. Выявлено повышение удельной активности ЛДГпр, ЛДГобр во всех субклеточных фракциях органов под влиянием АФК и АФА при КТТ.

10. Применение АФК и АФА при КТТ способствовало снижению Kt и повышению  $V_{max}/Kt$  ЛДГпр и ЛДГобр в субклеточных фракциях печени, почек, сердца, легких. Максимальный рост  $V_{max}/Kt$  ЛДГпр, ЛДГобр под влиянием АФК и АФА выявлен в субклеточных фракциях сердца при КТТ.

11. Под воздействием АФК, АФА при КТТ выявлен рост удельной активности АДГобр в субклеточных фракциях печени, почек, сердца, легких.

12. Применение всех АФК при КТТ способствовало повышению  $V_{max}/Kt$  АДГпр, АДГобр в субклеточных фракциях печени, почек, сердца, легких. Максимальное повышение  $V_{max}/Kt$  АДГпр, АДГобр под влиянием АФК и АФА выявлено во всех субклеточных фракциях печени крыс с КТТ.

13. Ингаляции NO, СК, ДНКЖ, совместно ДНКЖ и иNO при КТТ привели к повышению удельной активности АлДГ в субклеточных фракциях печени, почек, сердца и легких. Максимальный рост активности АлДГ при

КТТ под влиянием иNO, СК выявлен в митохондриях органов, ДНКЖ, ДНКЖ и иNO – в митохондриях почек, сердца, легких и гомогенате печени.

14. АФК и АФА при КТТ способствовали повышению  $V_{max}$ ,  $V_{max}/K_t$  АлДГ во всех субклеточных фракциях печени, почек, сердца, легких. Максимальное увеличение  $V_{max}/K_t$  АлДГ под влиянием всех АФК выявлено во всех субклеточных фракциях печени крыс с КТТ.

15. В крови пациентов с ТТ наблюдался рост концентрации глюкозы и лактата, показателей СРО, ингибирование АлДГ, ОАА, каталазы, СОД, ГР, Гл-6-фДГ, ЛДГпр, ЛДГобр. Для СОД, каталазы, ЛДГ, АлДГ при ТТ отмечено повышение  $K_t$ , снижение  $V_{max}$  и  $V_{max}/K_t$ . СКТ у больных с ТТ вызвала нормализацию концентрации лактата, ОАА, уменьшение концентрации МДА в плазме, рост активности СОД, каталазы, ЛДГ, АлДГ, КБЭР. Повышение активности СОД, каталазы, ЛДГ, АлДГ в эритроцитах после СКТ при ТТ обусловлено снижением  $K_t$ , увеличением  $V_{max}$ ,  $V_{max}/K_t$ .

16. Активность АлДГ повысилась под влиянием ДНКЖ путем их связывания с сульфгидрильными группами в активном центре фермента.

### **3.4. Концентрация нитритов и нитратов в крови и органах крыс под воздействием оксида азота в норме и при ожоге**

Поскольку NO, с одной стороны, является биорегулятором, а с другой, может играть негативную роль, преимущественно реализуемую через образование пероксинитрита [77] и возможность развития в организме НС [574], принципиальную значимость приобрел вопрос об оценке уровня NO в биосистемах. Кроме того, при терапии NO возникла необходимость количественного анализа продукции NO [389; 391; 587; 857; 858]. Так как прямой количественный анализ NO не возможен, поскольку это короткоживущее соединение [159], а единственным стабильным конечным продуктом аутоокисления NO в водной среде являются нитриты, тогда как при реакции NO с оксигемоглобином или супероксид радикалом образуются нитраты, то для измерения концентрации NO использовали определение в плазме крови и субклеточных фракциях органов суммарного уровня

стабильных конечных метаболитов NO ( $\text{NO}_x$ ), т. е. нитритов и нитратов ( $\text{NO}_2^-$  и  $\text{NO}_3^-$ , соответственно) [247; 248], который достаточно точно отражает степень активности NOS [28; 151; 225; 426]. Полученные результаты показали, что КТТ сопровождалась повышением концентрации конечных метаболитов NO в крови по сравнению с показателями здоровых крыс (табл. 101). Так, на 1 сутки после КТТ в плазме крови уровень  $\text{NO}_x$ , содержание нитритов и нитратов увеличилось на 188,99% ( $p=0,000$ ), 11,75% ( $p=0,012$ ) и 236,45% ( $p=0,000$ ), на 7 сутки после КТТ – на 55,70% ( $p=0,004$ ), 29,41% ( $p=0,011$ ), 62,74% ( $p=0,001$ ), на 10 сутки – на 105,61% ( $p=0,000$ ), 19,50% ( $p=0,023$ ), 128,67% ( $p=0,000$ ) по сравнению со здоровыми животными.

Однако выявлено снижение концентрации конечных метаболитов NO в субклеточных фракциях органов крыс с КТТ по сравнению с показателями здоровых крыс. В гомогенате, цитоплазматической фракции печени на 1, 7, 10 сутки после КТТ произошло статистически значимое снижение уровня  $\text{NO}_x$ , нитритов, нитратов (табл. 102, 103).

Таблица 101

## Содержание метаболитов монооксида азота в плазме крови крыс

Условия эксперимента	$\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ ( $\text{NO}_x$ ), $\mu\text{M}$	$\text{NO}_2^-$ , $\mu\text{M}$	$\text{NO}_3^-$ , $\mu\text{M}$
Здоровые крысы	28,17±0,83	5,95±0,14	22,22±1,12
КТТ, 1 сутки	81,41±0,61*	6,65±0,02*	74,76±1,27*
КТТ, 7 сутки	43,86±1,07*	7,70±0,19*	36,16±0,51*
КТТ, 10 сутки	57,92±1,18*	7,11±0,13*	50,81±1,08*
КТТ+ДНКЖ, 10 сутки	51,05±0,27*/**	6,73±0,25	44,32±0,39*/**
КТТ+NO (20ppm), 10 сутки	40,22±0,95*/**	7,03±0,18*	32,59±1,08*/**
Здоровые крысы+ДНКЖ, 10 сутки	32,17±0,46*	5,63±0,25	26,54±1,26*
Здоровые крысы+NO (20ppm), 10 сутки	34,62±1,01*	6,08±0,17	28,54±0,42*
Здоровые крысы+NO (50ppm), 10 сутки	35,33±1,17*	6,77±0,06*	28,56±1,03*
Здоровые крысы+NO(100ppm), 10 сутки	68,17±0,56*	7,37±0,14*	60,80±0,75*

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p<0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с КТТ на соответствующие сутки ( $p<0,05$ ).

Таблица 102

## Содержание метаболитов монооксида азота в гомогенате печени крыс

Условия эксперимента	$\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ , $\mu\text{M}$	$\text{NO}_2^-$ , $\mu\text{M}$	$\text{NO}_3^-$ , $\mu\text{M}$
Здоровые крысы	104,70±1,86	33,60±0,58	71,10±0,39
КТТ, 1 сутки	56,33±0,62*	23,78±1,04*	32,55±1,13*
КТТ, 7 сутки	80,58±0,57*	28,15±0,56*	52,43±0,56*
КТТ, 10 сутки	65,43±1,28*	20,93±1,05*	44,50±0,99*
КТТ+ДНКЖ, 10 сутки	116,12±0,57*/**	46,43±0,33*/**	69,69±0,97**
КТТ+NO (20ppm), 10 сутки	115,03±1,35*/**	42,53±1,19*/**	72,50±1,01**
Здоровые крысы+ДНКЖ, 10 сутки	102,05±0,99	34,01±0,26	68,04±0,87
Здоровые крысы+NO (20ppm), 10 сутки	103,57±1,35	33,98±0,74	69,59±0,68
Здоровые крысы+NO (50ppm), 10 сутки	105,56±1,09	31,23±1,09	74,33±0,52*

Здоровые крысы+NO(100ppm), 10 сутки	106,79±1,12	32,57±0,81	74,22±0,74*
-------------------------------------	-------------	------------	-------------

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p<0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с КТТ на соответствующие сутки ( $p<0,05$ ).

Таблица 103

## Содержание метаболитов монооксида азота в цитозоле печени крыс

Условия эксперимента	$\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ , $\mu\text{M}$	$\text{NO}_2^-$ , $\mu\text{M}$	$\text{NO}_3^-$ , $\mu\text{M}$
Здоровые крысы	87,03±1,02	18,91±0,34	68,12±0,38
КТТ, 1 сутки	31,83±0,84*	9,05±0,06*	22,78±1,15*
КТТ, 7 сутки	51,93±0,93*	8,47±0,18*	43,46±1,01*
КТТ, 10 сутки	46,08±1,05*	6,82±0,07*	39,26±1,58*
КТТ+ДНКЖ, 10 сутки	74,72±0,71*/**	15,68±0,22*/**	59,04±0,79*/**
КТТ+NO (20ppm), 10 сутки	77,18±1,24*/**	13,50±0,15*/**	63,68±0,64*/**
Здоровые крысы+ДНКЖ, 10 сутки	87,45±1,07	17,65±0,09	69,80±1,03
Здоровые крысы+NO (20ppm), 10 сутки	86,98±1,36	18,64±0,55	68,34±0,25
Здоровые крысы+NO (50ppm), 10 сутки	90,32±1,97	19,47±0,62	70,85±0,19*
Здоровые крысы+NO(100ppm), 10 сутки	89,63±1,11	18,48±0,52	71,15±0,35*

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p<0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с КТТ на соответствующие сутки ( $p<0,05$ ).

Было обнаружено достоверное снижение концентрации нитритов, нитратов,  $\text{NO}_x$  в митохондриальной фракции печени при КТТ (1 сутки). На 7 сутки после КТТ концентрация  $\text{NO}_x$  уменьшилась на 4,79% ( $p=0,921$ ), нитритов – на 20,76% ( $p=0,010$ ). На 10 сутки после КТТ отмечено максимальное падение уровня метаболитов NO в митохондриях печени:  $\text{NO}_x$  – на 16,74% ( $p=0,021$ ), нитритов – на 34,63% ( $p=0,006$ ), нитратов – на 6,53% ( $p=0,039$ ) (табл. 104).

Таблица 104

## Содержание метаболитов монооксида азота в митохондриях печени крыс

Условия эксперимента	$\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ , $\mu\text{M}$	$\text{NO}_2^-$ , $\mu\text{M}$	$\text{NO}_3^-$ , $\mu\text{M}$
Здоровые крысы	56,75±0,98	20,62±1,04	36,13±0,59
КТТ, 1 сутки	51,37±1,05*	18,10±0,13*	33,27±0,83*
КТТ, 7 сутки	54,03±1,15	16,34±0,17*	37,69±0,47
КТТ, 10 сутки	47,25±0,69*	13,48±0,29*	33,77±0,58*
КТТ+ДНКЖ, 10 сутки	58,02±0,52**	17,05±0,06*/**	40,97±0,62*/**
КТТ+NO (20ppm), 10 сутки	101,55±1,95*/**	37,35±0,54*/**	64,20±1,05*/**
Здоровые крысы+ДНКЖ, 10 сутки	57,45±0,79	21,05±0,16	36,40±0,59
Здоровые крысы+NO (20ppm), 10 сутки	57,03±0,63	19,79±0,08	37,24±0,64
Здоровые крысы+NO (50ppm), 10 сутки	56,63±0,48	19,87±0,11	36,76±0,37
Здоровые крысы+NO(100ppm), 10 сутки	58,21±1,03	19,31±0,23	38,90±0,45*

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p<0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с КТТ на соответствующие сутки ( $p<0,05$ ).

Выявлено снижение  $\text{NO}_x$ ,  $\text{NO}_2^-$  и  $\text{NO}_3^-$  на 1, 7, 10 сутки после КТТ в гомогенате, цитозоле, митохондриях почек (табл. 105, 106, 107). Максимальное снижение  $\text{NO}_x$ , нитритов и нитратов в гомогенате и митохондриях почек отмечено на 10 сутки после КТТ. В цитоплазматической

фракции почек наибольшее падение концентрации суммарных продуктов метаболизма NO выявлено на 1 сутки после КТТ на 62,04% ( $p=0,000$ ).

Таблица 105

## Содержание метаболитов монооксида азота в гомогенате почек крыс

Условия эксперимента	$\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ , $\mu\text{M}$	$\text{NO}_2^-$ , $\mu\text{M}$	$\text{NO}_3^-$ , $\mu\text{M}$
Здоровые крысы	104,60±0,58	26,20±0,36	78,40±0,64
КТТ, 1 сутки	58,88±0,60*	17,43±0,13*	41,45±1,05*
КТТ, 7 сутки	53,05±0,88*	17,87±0,21*	35,18±1,11*
КТТ, 10 сутки	42,33±1,42*	18,50±0,08*	23,83±0,48*
КТТ+ДНКЖ, 10 сутки	86,97±0,60*/**	24,97±0,07**	62,00±0,84*/**
КТТ+NO (20ppm), 10 сутки	144,00±1,01*/**	33,22±0,52*/**	110,78±0,95*/**
Здоровые крысы+ДНКЖ, 10 сутки	165,85±3,79*	50,25±1,17*	115,60±0,63*
Здоровые крысы+NO (20ppm), 10 сутки	106,92±0,74	25,50±0,12	81,42±0,50
Здоровые крысы+NO (50ppm), 10 сутки	196,53±1,05*	34,55±1,16*	161,98±1,26*
Здоровые крысы+NO(100ppm), 10 сутки	210,75±0,61*	46,80±0,27*	163,95±1,03*

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p<0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с КТТ на соответствующие сутки ( $p<0,05$ ).

Таблица 106

## Содержание метаболитов монооксида азота в цитозоле почек крыс

Условия эксперимента	$\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ , $\mu\text{M}$	$\text{NO}_2^-$ , $\mu\text{M}$	$\text{NO}_3^-$ , $\mu\text{M}$
Здоровые крысы	61,20±0,85	21,05±0,14	40,15±0,67
КТТ, 1 сутки	23,23±0,56*	5,80±0,04*	17,43±0,15*
КТТ, 7 сутки	39,57±0,35*	4,90±0,19*	34,67±0,49*
КТТ, 10 сутки	31,87±1,24*	4,77±0,20*	27,10±0,54*
КТТ+ДНКЖ, 10 сутки	42,45±0,31*/**	6,05±0,03*/**	36,40±0,83*/**
КТТ+NO (20ppm), 10 сутки	109,60±1,90*/**	28,00±0,31*/**	81,60±1,05*/**
Здоровые крысы+ДНКЖ, 10 сутки	94,25±0,82*	33,65±1,04*	60,60±1,61*
Здоровые крысы+NO (20ppm), 10 сутки	63,77±0,63	21,21±0,53	42,56±1,13
Здоровые крысы+NO (50ppm), 10 сутки	113,84±1,59*	26,68±1,11*	87,16±0,84*
Здоровые крысы+NO(100ppm), 10 сутки	114,67±0,83*	34,95±0,15*	79,72±1,65*

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p<0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с КТТ на соответствующие сутки ( $p<0,05$ ).

Таблица 107

## Содержание метаболитов монооксида азота в митохондриях почек крыс

Условия эксперимента	$\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ , $\mu\text{M}$	$\text{NO}_2^-$ , $\mu\text{M}$	$\text{NO}_3^-$ , $\mu\text{M}$
Здоровые крысы	50,27±0,85	17,33±0,21	32,94±0,39
КТТ, 1 сутки	42,45±1,03*	13,20±0,16*	29,25±0,62*
КТТ, 7 сутки	39,38±1,02*	12,98±0,05*	26,4±0,52*
КТТ, 10 сутки	36,65±0,64*	12,67±0,35*	23,98±0,84*
КТТ+ДНКЖ, 10 сутки	46,62±0,15*/**	13,68±0,28*	32,94±0,75**
КТТ+NO (20ppm), 10 сутки	112,70±1,05*/**	29,50±1,03*/**	83,20±1,15*/**
Здоровые крысы+ДНКЖ, 10 сутки	133,00±1,37*	57,80±0,85*	75,20±0,56*
Здоровые крысы+NO (20ppm), 10 сутки	51,15±1,04	16,65±0,15	34,50±0,53
Здоровые крысы+NO (50ppm), 10 сутки	72,75±1,12*	24,55±0,26*	48,20±0,11*
Здоровые крысы+NO(100ppm), 10 сутки	65,80±0,84*	23,85±0,47*	41,95±0,68*

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p<0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с КТТ на соответствующие сутки ( $p<0,05$ ).

В гомогенате сердца максимальное снижение  $\text{NO}_x$ ,  $\text{NO}_2^-$  и  $\text{NO}_3^-$  отмечено на 1 сутки после КТТ: на 28,29% ( $p=0,019$ ), 45,23% ( $p=0,007$ ) и

23,53% ( $p=0,017$ ) соответственно по сравнению со здоровыми животными. В гомогенате сердца концентрация  $\text{NO}_x$ ,  $\text{NO}_2^-$  и  $\text{NO}_3^-$  осталась пониженной на 7, 10 сутки после КТТ (табл. 108).

Таблица 108

## Содержание метаболитов монооксида азота в гомогенате сердца крыс

Условия эксперимента	$\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ , $\mu\text{M}$	$\text{NO}_2^-$ , $\mu\text{M}$	$\text{NO}_3^-$ , $\mu\text{M}$
Здоровые крысы	45,35±1,05	9,95±0,23	35,40±1,04
КТТ, 1 сутки	32,52±0,21*	5,45±0,04*	27,07±0,12*
КТТ, 7 сутки	39,36±0,54*	7,03±0,19*	32,33±0,99*
КТТ, 10 сутки	41,17±0,39*	6,50±0,08*	34,67±1,03
КТТ+ДНКЖ, 10 сутки	45,02±1,06**	7,98±0,21*/**	37,04±0,27**
КТТ+NO (20ppm), 10 сутки	116,95±2,07*/**	18,05±0,45*/**	98,90±1,54*/**
Здоровые крысы+ДНКЖ, 10 сутки	130,03±1,68*	39,25±0,97*	90,78±0,80*
Здоровые крысы+NO (20ppm), 10 сутки	78,35±1,15*	18,25±0,24*	60,10±1,13*
Здоровые крысы+NO (50ppm), 10 сутки	89,00±1,18*	24,60±0,56*	64,40±0,58*
Здоровые крысы+NO(100ppm), 10 сутки	125,05±2,03*	51,80±1,15*	73,25±1,06*

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p<0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с КТТ на соответствующие сутки ( $p<0,05$ ).

В цитоплазматической фракции сердца наиболее выраженное снижение  $\text{NO}_x$ ,  $\text{NO}_2^-$  и  $\text{NO}_3^-$  наблюдалось на 1 и 7 сутки после ожога. На 10 сутки после КТТ в цитозоле сердца уровень  $\text{NO}_x$ , нитритов и нитратов уменьшился на 20,25% ( $p=0,028$ ), 13,01% ( $p=0,042$ ) и 21,31% ( $p=0,018$ ) (табл. 109).

Таблица 109

## Содержание метаболитов монооксида азота в цитозоле сердца крыс

Условия эксперимента	$\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ , $\mu\text{M}$	$\text{NO}_2^-$ , $\mu\text{M}$	$\text{NO}_3^-$ , $\mu\text{M}$
Здоровые крысы	41,88±0,64	5,38±0,11	36,50±0,24
КТТ, 1 сутки	27,50±1,11*	4,20±0,04*	23,30±1,05*
КТТ, 7 сутки	27,85±1,04*	4,63±0,13*	23,22±0,93*
КТТ, 10 сутки	33,40±0,23*	4,68±0,06*	28,72±0,13*
КТТ+ДНКЖ, 10 сутки	35,75±0,70*/**	4,95±0,09	30,80±0,58*/**
КТТ+NO (20ppm), 10 сутки	92,40±0,82*/**	10,45±0,18*/**	81,95±1,31*/**
Здоровые крысы+ДНКЖ, 10 сутки	105,30±1,63*	21,07±0,43*	84,23±1,26*
Здоровые крысы+NO (20ppm), 10 сутки	49,97±0,27*	5,80±0,06	44,17±1,06*
Здоровые крысы+NO (50ppm), 10 сутки	56,04±0,89*	6,85±0,15*	49,19±1,14*
Здоровые крысы+NO(100ppm), 10 сутки	101,00±1,65*	27,25±0,04*	73,75±0,64*

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p<0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с КТТ на соответствующие сутки ( $p<0,05$ ).

В митохондриях сердца максимальное снижение концентрации  $\text{NO}_x$ ,  $\text{NO}_2^-$  и  $\text{NO}_3^-$  выявлено на 10 сутки после КТТ на 15,88% ( $p=0,035$ ), 26,27% ( $p=0,038$ ) и 13,50% ( $p=0,027$ ) (табл. 110).

Таблица 110

## Содержание метаболитов монооксида азота в митохондриях сердца крыс

Условия эксперимента	$\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ , $\mu\text{M}$	$\text{NO}_2^-$ , $\mu\text{M}$	$\text{NO}_3^-$ , $\mu\text{M}$
Здоровые крысы	33,68±0,63	6,28±0,11	27,40±0,35
КТТ, 1 сутки	30,25±0,22*	4,40±0,08*	25,85±0,42*

КТТ, 7 сутки	29,25±0,54*	6,06±0,10	23,19±0,51*
КТТ, 10 сутки	28,33±0,85*	4,63±0,05*	23,70±0,28*
КТТ+ДНКЖ, 10 сутки	34,90±0,39**	6,68±0,13**	28,22±0,37**
КТТ+NO (20ppm), 10 сутки	149,15±1,77*/**	39,25±0,41*/**	109,90±1,84*/**
Здоровые крысы+ДНКЖ, 10 сутки	139,00±1,69*	53,10±0,88*	85,90±1,05*
Здоровые крысы+NO (20ppm), 10 сутки	50,95±0,71*	13,90±0,17*	37,05±0,40*
Здоровые крысы+NO (50ppm), 10 сутки	57,11±0,54*	17,00±0,24*	40,11±0,56*
Здоровые крысы+NO(100ppm), 10 сутки	111,35±0,85*	50,85±0,51*	60,50±0,23*

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p<0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с КТТ на соответствующие сутки ( $p<0,05$ ).

КТТ сопровождалась уменьшением концентрации  $\text{NO}_x$ ,  $\text{NO}_2^-$  и  $\text{NO}_3^-$  в гомогенате, цитозоле, митохондриях легких на 1, 7, 10 сутки после КТТ (табл. 111, 112, 113). Максимальное падение  $\text{NO}_x$ ,  $\text{NO}_2^-$  и  $\text{NO}_3^-$  отмечено в гомогенате легких на 1 сутки после КТТ на 37,92% ( $p=0,007$ ), 46,92% ( $p=0,000$ ), 34,18% ( $p=0,005$ ) по сравнению со здоровыми животными. Уровень  $\text{NO}_x$ ,  $\text{NO}_2^-$  и  $\text{NO}_3^-$  максимально уменьшился в цитозоле легких на 7 сутки после КТТ, в митохондриях – на 10 сутки.

Таблица 111

## Содержание метаболитов монооксида азота в гомогенате легких крыс

Условия эксперимента	$\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ , $\mu\text{M}$	$\text{NO}_2^-$ , $\mu\text{M}$	$\text{NO}_3^-$ , $\mu\text{M}$
Здоровые крысы	50,21±0,66	14,75±0,13	35,46±0,27
КТТ, 1 сутки	31,17±0,72*	7,83±0,05*	23,34±0,13*
КТТ, 7 сутки	44,43±0,18*	10,98±0,07*	33,45±0,18*
КТТ, 10 сутки	39,82±0,35*	10,68±0,16*	29,14±0,09*
КТТ+ДНКЖ, 10 сутки	45,98±0,29*/**	12,08±0,05*/**	33,90±0,21*/**
КТТ+NO (20ppm), 10 сутки	156,70±1,84*/**	32,45±0,37*/**	124,25±1,45*/**
Здоровые крысы+ДНКЖ, 10 сутки	148,01±1,93*	43,25±0,58*	104,76±0,75*
Здоровые крысы+NO (20ppm), 10 сутки	49,85±0,22	15,00±0,12	34,85±0,18
Здоровые крысы+NO (50ppm), 10 сутки	64,50±0,43*	18,70±0,20*	45,80±0,10*
Здоровые крысы+NO(100ppm), 10 сутки	83,50±0,57*	20,10±0,16*	63,40±0,16*

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p<0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с КТТ на соответствующие сутки ( $p<0,05$ ).

Таблица 112

## Содержание метаболитов монооксида азота в цитозоле легких крыс

Условия эксперимента	$\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ , $\mu\text{M}$	$\text{NO}_2^-$ , $\mu\text{M}$	$\text{NO}_3^-$ , $\mu\text{M}$
Здоровые крысы	47,58±0,46	6,65±0,02	40,93±0,48
КТТ, 1 сутки	31,55±0,23*	5,83±0,10*	25,72±0,23*
КТТ, 7 сутки	30,33±0,41*	5,29±0,05*	25,04±0,25*
КТТ, 10 сутки	36,53±0,17*	5,67±0,08*	30,86±0,17*
КТТ+ДНКЖ, 10 сутки	41,43±0,09*/**	6,08±0,14*	35,35±0,31*/**
КТТ+NO (20ppm), 10 сутки	117,50±0,72*/**	16,70±0,25*/**	100,80±0,78*/**
Здоровые крысы+ДНКЖ, 10 сутки	133,00±1,46*	26,91±0,31*	106,09±1,53*
Здоровые крысы+NO (20ppm), 10 сутки	48,85±0,51	6,67±0,06	42,18±1,15
Здоровые крысы+NO (50ppm), 10 сутки	54,15±0,11*	8,63±0,09*	45,52±0,24*
Здоровые крысы+NO(100ppm), 10 сутки	59,92±0,23*	9,05±0,12*	50,87±0,32*

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p<0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с КТТ на соответствующие сутки ( $p<0,05$ ).

Таблица 113

## Содержание метаболитов монооксида азота в митохондриях легких крыс

Условия эксперимента	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> +NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , μM	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , μM	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , μM
Здоровые крысы	37,37±0,67	7,30±0,06	30,07±0,16
КТТ, 1 сутки	31,62±0,34*	5,33±0,05*	26,29±0,20*
КТТ, 7 сутки	28,20±0,41*	6,78±0,11*	21,42±0,12*
КТТ, 10 сутки	24,03±0,22*	6,35±0,04*	17,68±0,08*
КТТ+ДНКЖ, 10 сутки	34,52±0,17*/**	6,87±0,13**	27,65±0,31*/**
КТТ+NO (20ppm), 10 сутки	121,40±0,75*/**	44,50±0,36*/**	76,90±0,47*/**
Здоровые крысы+ДНКЖ, 10 сутки	128,10±0,52*	50,65±0,88*	77,45±0,65*
Здоровые крысы+NO (20ppm), 10 сутки	38,05±0,16	7,55±0,09	30,50±0,07
Здоровые крысы+NO (50ppm), 10 сутки	45,06±0,12*	10,21±0,12*	34,85±0,04*
Здоровые крысы+NO(100ppm), 10 сутки	49,96±0,08*	12,55±0,23*	37,41±0,28*

Примечание: \* - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ( $p < 0,05$ ); \*\* - различия статистически значимы по сравнению с КТТ на соответствующие сутки ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, у здоровых животных максимальное содержание NO<sub>x</sub> обнаружено в печени > почках > легких > сердце. При нормоксии NO активирует различные сигнальные пути в зависимости от пороговой концентрации [227; 266; 295; 296]. В тканях NO взаимодействует с O<sub>2</sub>, образуя нитриты и нитраты [280], в жидкой среде организма дающие NO<sub>2</sub><sup>-</sup> или NO<sub>3</sub><sup>-</sup> [351].

NO в печени может оказывать как защитное действие, связанное с регуляцией тока крови и взаимодействием клеток, так и повреждающие эффекты на гомеостаз печени [15], в которой экспрессируются все изоформы NOS, основными для которой являются *i*NOS и *e*NOS [324]. В гепатоцитах (*in vitro*) экспрессия *i*NOS осуществляется только в присутствии купфферовских клеток, стимулированных липополисахаридом,  $\gamma$ -интерфероном, фактором некроза опухоли, провоспалительным интерлейкином-1, интерлейкином-6, синтез и секреция которых увеличивается при ТТ [244; 387]. *e*NOS определяется в терминальных печеночных венах, эндотелии артерий печени, синусоидах и эпителии желчных протоков [603].

Печень включает цикл мочевины и фермент фенилаланингидроксилазу, которая конкурирует с *i*NOS за кофактор тетрагидробиоптерин (BH4) [663]. В цикле мочевины синтезируется аргинин из аммиака и орнитина. В отсутствие аргинина продукция NO в печени происходит за счет эндогенных источников данной аминокислоты [867]. *i*NOS гепатоцитов человека на 51% идентична аминокислотной последовательности *e*NOS и на 53% – *n*NOS

человека. Индукция *i*NOS в гепатоцитах *in vivo* и *in vitro* зависит от состояния внутриклеточного глутатиона, истощение которого предотвращает индукцию *i*NOS [15]. NO вызывает в гепатоцитах ингибирование глюконеогенеза, белкового синтеза, дыхания митохондрий, активности глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы, аконитазы и цитохрома P450, а также активацию растворимой гуанилатциклазы [199; 271]. Ингибирование NOS в организме приводит к нарушению прооксидантного-антиоксидантного баланса в период ишемии и реперфузии печени [415]. Установлены факты гепатотоксического воздействия NO при эндотоксемии. При экспериментальном сепсисе снижение уровня продукции NO в печени защищает гепатоциты от некроза, а большие количества NO, продуцируемые *i*NOS, предотвращают апоптоз [324]. *i*NOS-регулируемый выброс NO вызывает экспрессию защитных протеинов – белка Hsp70 и циклооксигеназы [15]. Поэтому использование доноров NO предоставляет новые возможности для лечения ряда заболеваний печени.

В почках NO регулирует ренальный кровоток, водно-солевой обмен [233], процессы фильтрации [477], реабсорбции, секреции, инкреции [28; 585; 739], оказывает натрийуретическое и мочегонное действие [28], NO ингибирует Na<sup>+</sup> и водный транспорт в стенках канальцев нефрона [28]. NO постоянно синтезируется в почках [233], в различных отделах которых представлены все 3 изоформы NOS: *n*NOS, *i*NOS и *e*NOS [599]. *n*NOS локализована в плотном пятне, нейронах, капсуле Боумена-Шумлянско-го, собирательных канальцах, участвуя в регуляции клубочковой гемодинамики, секреции ренина и натрийуреза [28; 799]. В плотном пятне отмечено наличие трех изоформ *n*NOS (*n*NOS- $\alpha$ , *n*NOS- $\beta$  и *n*NOS- $\gamma$ ) [519; 653].

В лёгких также присутствуют 3 изоформы NOS [287], которые являются продуктами экспрессии генов NOS<sub>1</sub>, NOS<sub>2</sub> и NOS<sub>3</sub> [432]. *e*NOS находится в эндотелии сосудов бронхов и эпителиальных клетках, *n*NOS – в холинергических и нехолинергических/неадренергических нервах бронхов, эпителиальных клетках. *m*NOS определяется в клетках в ответ на цитокины,

эндотоксин и оксиданты. Показано участие полиморфизма генов NOS в формировании патологии органов дыхания [402]. Человеческий трахеальный, бронхиальный и бронхоальвеолярный эпителий НАДФН-диафораз-реактивен, что является идентичным NOS. Экспрессия *i*NOS осуществляется в альвеолоцитах, альвеолярных макрофагах, нейтрофилах, тучных клетках, эндотелиальных, гладкомышечных клетках, эпителиальных клетках, неадренергических нехолинергических нейронах [227; 335]. Эндогенный NO образуется также в верхних дыхательных путях, 90% которого – в полости носа, а 50-70% образовавшегося NO аутоингалируется, поступая в легкие [227]. Нарушение продукции и/или разрушение NO имеет значение при возникновении гиперреактивности дыхательных путей в патофизиологии органов дыхания, что важно при термоингаляционной травме.

Многие регуляторные функции NO обнаружены в сердце [504], где синтез NO осуществляется в нейронах и эндотелии сосудов и миоцитах [234; 238; 254; 311]. В образовании NO участвуют *c*NOS, *i*NOS, нитритредуктазные системы, которые связаны с гемсодержащими белками, восстанавливающими нитриты в NO [309]. NO регулирует функцию миокарда непосредственно и через влияние на сосуды [276; 309; 311]. В миокарде присутствуют *n*NOS, *i*NOS и *e*NOS [504]. В митохондриях кардиомиоцитов экспрессируется митохондриальная NOS (*mt*NOS) [309; 311], которую по сходству аминокислотной последовательности относят к *n*NOS. *mt*NOS влияет на синтез АТФ в митохондриях, модулируя транспорт  $\text{Ca}^{2+}$  [397; 628]. При патологии возрастает иммунореактивность к *i*NOS и *e*NOS, индукция *i*NOS в кардиомиоцитах вызывается провоспалительными цитокинами [309], повышение уровня которых сопровождается ТТ [387]. *e*NOS локализована в caveолах кардиомиоцитов – впячиваниях плазматической мембраны, обогащенных холестерином и гликофинголипидами [536]. *i*NOS находится в цитозоле клетки [233; 234; 311]. *n*NOS регулирует активность белков саркоплазматического ретикулума кардиомиоцита. *i*NOS опосредует цитотоксическое воздействие NO в миокарде [309; 600]. Нарушение

субклеточного распределения *n*NOS и *e*NOS в кардиомиоцитах связывают с развитием различных патологических состояний миокарда [309; 591; 788].

NO активно влияет на процесс открытия митохондриальных пор, являющийся ключевым звеном в развитии реперфузионных нарушений функции сердца. Данное влияние NO имеет дозозависимый характер [756]. Блокада поры под действием NO объясняется ингибированием цитохромоксидазы. Большие концентрации NO (более 20 мкМ) вызывают угнетение синтеза АТФ и нитрозолирование SH-групп митохондриальных белков, что ведет к открыванию митохондриальных пор [481]. NO, взаимодействуя с супероксидом, образует пероксинитрит, который через окисление тиоловых групп белков также приводит к открыванию митохондриальных пор [488]. С другой стороны, NO является ингибитором митохондриальных пор, проявляя активность в концентрациях, обеспечиваемых эндотелиальными клетками и кардиомиоцитами [436].

В работе показано, что КТТ сопровождалась гиперпродукцией NO и накоплением продуктов деградации NO в плазме крови. Нитриты в крови взаимодействуют с Hb, окисляя двухвалентное железо, в результате образуется метгемоглобин, который неспособен осуществить обратимое связывание O<sub>2</sub>, в результате развивается гипоксия, накапливается молочная кислота, холестерин и резко падает количество белка [150], что наблюдается при КТТ [270; 387; 616; 642]. С другой стороны, гиперпродукцию NO можно рассматривать как компенсаторно-приспособительную реакцию в условиях развивающейся при ТТ гипоксии, направленную на усиление кровотока, поскольку NO является мощным вазодилататором. Существует гипотеза о том, что стресс-реакция и долговременная адаптация приводят (или являются следствием) к уменьшению или увеличению продукции NO [229]. Механизмы синтеза NO определяются степенью оксигенации крови и могут активироваться при гипоксии и ишемии [195; 309; 531].

При ожоговом стрессе, гипоксии имеет место гиперпродукция АФК и их взаимодействие с NO с образованием пероксинитрита [295; 544].

Следовательно, NO является одним из ключевых факторов в патофизиологии ОС, а пероксинитрит анион участвует в реализации ОС, индуцируя повреждение ДНК и мутации. Избыточная продукция NO – важное звено в патогенезе острой недостаточности кровообращения при шоке. Активация *i*NOS вызывает рост NO в крови при сочетанной травме [296]. При стрессе, гипоксии возрастает активность *e*NOS и, как следствие, концентрация внутриклеточного NO [506]. Оксиданты стимулируют экспрессию *i*NOS [32; 457].

В данной работе обнаружено снижение концентрации стабильных конечных метаболитов NO в субклеточных фракциях органов крыс при КТТ, что может быть обусловлено уменьшением количества L-аргинина и нарушением нитрит-редуктазных механизмов синтеза молекулы NO [310]. Повышение  $O_2^-$ -деятельности, отмечаемое при ТТ [387], вызывает уменьшение содержания NO и ведет к несоответствию между окислительным и антиоксидантными механизмами в тканях, участвуя во многих патофизиологических процессах в организме [28; 639].

Уменьшение образования NO может происходить под действием липопротеинов низкой плотности, высоких концентраций глюкозы, гипоксии, ишемии за счет ингибирования NOS и снижения их экспрессии [28; 296; 863]. Низкий уровень NO в тканях приводит к росту тонуса сосудов, свертываемости крови, снижению иммунитета [245; 246; 295; 338; 369] и адаптивных возможностей организма, изменениям метаболизма [227; 528; 846]. Наибольшее падение уровня  $NO_x$ ,  $NO_2^-$  и  $NO_3^-$  при КТТ наблюдалось в почках > печени > легких > сердце. Основным путем выведения нитратов являются почки, которые подвергаются значительному воздействию эндотоксинов, образующихся при ожоге, сопровождающемся нарушениями функции почек, негативными сдвигами структурно-функциональных параметров нефрона, модуляцией активности некоторых гуморальных систем регуляции функций почек и сосудистого тонуса [71; 778]. Максимальное

снижение суммарных конечных продуктов деградации NO отмечалось на 1 сутки после КТТ и затем на 10 сутки после ожога.

Анализируя характер снижения суммарного уровня стабильных конечных метаболитов NO, следует отметить, что наибольшее уменьшение уровня NO<sub>x</sub> и нитратов при КТТ отмечено в цитоплазматической фракции всех исследуемых органов, меньшее – в митохондриях органов по сравнению со здоровыми животными. В печени и почках при КТТ максимальное уменьшение концентрации нитритов выявлено в цитозоле, затем в митохондриях органов по сравнению со здоровыми крысами. В сердце и легких при КТТ максимальное падение содержания нитритов наблюдалось в митохондриях и меньшее – в цитоплазматической фракции органов.

Отмечено повышение концентрации NO<sub>x</sub> и нитратов в плазме крови после 10-дневного введения здоровым крысам ДНКЖ на 14,20% (p=0,036), 19,44% (p=0,016) и курса ингаляций здоровых крыс NO в концентрации 20ppm – на 22,90% (p=0,024), 28,44% (p=0,007). Под воздействием 50ppm и NO содержание NO<sub>x</sub>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup> и NO<sub>3</sub><sup>-</sup> возросло на 25,42% (p=0,010), 13,78% (p=0,022), 28,53% (p=0,001) соответственно по сравнению с интактными животными. Ингаляции 100ppm NO вызвали у здоровых животных повышение в плазме уровня NO<sub>x</sub>, нитритов и нитратов на 141,99% (p=0,000), 23,87% (p=0,030), 173,63% (p=0,000) соответственно по сравнению с интактными крысами (табл. 101). Таким образом, у здоровых крыс под влиянием и NO и ДНКЖ наблюдалось повышение уровня суммарных конечных стабильных метаболитов NO в плазме, наиболее выраженное при ингаляциях NO по сравнению с воздействием ДНКЖ. При этом при ингаляциях NO максимальное увеличение продуктов деградации NO у здоровых крыс происходило при использовании 100ppm NO.

При воздействии экзогенного NO (ДНКЖ, 20ppm и NO) на организм здоровых животных уровень суммарных конечных стабильных метаболитов NO, нитритов и нитратов в гомогенате, цитозоле печени находился в пределах нормы. При ингаляции NO здоровых крыс в концентрации 50ppm и

100ppm содержание нитратов возросло в гомогенате печени на 4,54% ( $p=0,035$ ), 4,39% ( $p=0,027$ ), в цитозоле печени – на 4,00% ( $p=0,040$ ), 4,50% ( $p=0,031$ ) соответственно (табл. 102, 103). В митохондриях печени при воздействии ДНКЖ и ингаляций NO в концентрациях 20ppm и 50ppm на организм здоровых животных уровень  $NO_x$ , нитритов и нитратов находился в пределах нормы. При ингаляции 100ppm NO здоровых крыс концентрация нитратов возросла на 7,67% ( $p=0,039$ ) (табл. 104).

У здоровых крыс уровень  $NO_x$ , нитритов и нитратов статистически значимо увеличился после воздействия ДНКЖ в гомогенате, цитозоле, митохондриях почек по сравнению с показателями интактных крыс. При ингаляции NO здоровых крыс в концентрации 20ppm уровень  $NO_x$ , нитритов и нитратов в гомогенате, цитозоле, митохондриях почек, легких соответствовал значениям интактных крыс. Ингаляции NO в концентрации 50ppm и 100ppm привели к статистически значимому повышению суммарных конечных продуктов деградации NO, нитритов и нитратов в гомогенате, цитозоле, митохондриях почек, сердца, легких, наиболее выраженному при использовании 100ppm NO (табл. 105-113). В гомогенате, цитозоле, митохондриях сердца здоровых крыс содержание  $NO_x$ , нитритов и нитратов статистически значимо увеличилось после воздействия ДНКЖ и 20ppm и NO по сравнению с показателями интактных крыс.

У здоровых крыс концентрация  $NO_x$ , нитритов и нитратов увеличилась после воздействия ДНКЖ в гомогенате, цитозоле, митохондриях легких по сравнению с показателями интактных крыс. Ингаляции 20ppm NO при КТТ привели к снижению концентрации  $NO_x$  (30,56% ( $p=0,028$ )) и нитратов (35,86% ( $p=0,012$ )) в плазме крови (табл. 101). В плазме крови крыс с КТТ уровень  $NO_x$ , нитритов и нитратов уменьшился соответственно на 11,86% ( $p=0,031$ ), 5,34% ( $p=0,883$ ), 12,77% ( $p=0,025$ ) под влиянием ДНКЖ по сравнению с показателями животных с КТТ без лечения.

Ингаляции 20ppm NO, введение ДНКЖ при КТТ привели к статистически значимому повышению концентрации  $NO_x$ , нитритов и

нитратов в гомогенате печени по сравнению с показателями при КТТ, что способствовало нормализации содержания нитратов (табл. 102). В цитозоле печени уровень  $\text{NO}_x$ , нитритов и нитратов увеличился под влиянием ДНКЖ при КТТ на 62,15% ( $p=0,000$ ), 129,91% ( $p=0,000$ ), 50,38% ( $p=0,004$ ), после ингаляции 20ppm NO – на 67,49% ( $p=0,007$ ), 97,95% ( $p=0,000$ ), 62,20% ( $p=0,005$ ) соответственно по сравнению с показателями животных с КТТ без лечения (табл. 103). В митохондриях печени уровень  $\text{NO}_x$ , нитритов и нитратов увеличился под влиянием ДНКЖ при КТТ на 22,79% ( $p=0,011$ ), 26,48% ( $p=0,020$ ), 21,32% ( $p=0,014$ ), после ингаляций 20ppm NO – на 114,92% ( $p=0,000$ ), 177,08% ( $p=0,000$ ), 90,11% ( $p=0,000$ ) по сравнению с показателями крыс с КТТ без лечения. При этом в митохондриях печени при КТТ под воздействием ДНКЖ содержание  $\text{NO}_x$  нормализовалось (табл. 104).

Применение ДНКЖ при КТТ привело к увеличению уровня  $\text{NO}_x$ ,  $\text{NO}_2^-$  и  $\text{NO}_3^-$  по сравнению с показателями животных с КТТ без лечения в гомогенате, цитозоле, митохондриях почек, сердца, легких (табл. 105-113). ДНКЖ-терапия при КТТ вызвала нормализацию  $\text{NO}_x$  и нитратов в гомогенате сердца,  $\text{NO}_x$ , нитритов и нитратов – в митохондриях сердца. Ингаляции 20ppm NO при КТТ вызвали статистически значимый рост концентрации  $\text{NO}_x$ , нитритов, нитратов в субклеточных фракциях почек, сердца, легких по сравнению с показателями крыс с ожогом, превысив содержание  $\text{NO}_x$ , нитритов и нитратов здоровых животных.

Наиболее выраженный активирующий эффект иNO при КТТ, вероятно, обусловлен способом воздействия NO, при котором, в первую очередь, подвергаются действию органы дыхания. иNO устраняет легочную вазоконстрикцию, вызванную гипоксией, сердечными пороками и респираторным дистресс-синдромом [227; 231]. иNO не дает системного эффекта и улучшает артериальную оксигенацию [227; 773]. Известно о повышении содержания NO в легких при повышенном уровне  $\text{O}_2$  [520; 879].

Поддержание гомеостаза NO очень важно для защиты тканей миокарда, почек, печени и легких [539]. Повышение продукции NO в печени,

легких, сердце и почках под влиянием экзогенного NO при КТТ может быть обусловлено стимуляцией изоформ NOS [491; 539; 567; 816]. Показано, что повреждение почек характеризуется низкой активностью NOS [653]. Полученные результаты подтвердили данные литературы о повышении аддуктов NO в сердце и почках под влиянием ДНКЖ [838]. В печени не выявлено статистически значимых изменений концентрации NO.

При ингаляции NO здоровых крыс в концентрации 20ppm уровень NO<sub>x</sub>, нитритов и нитратов в субклеточных фракциях почек, печени и легких соответствовал показателям интактных крыс. И только во всех субклеточных фракциях сердца ингаляции 20ppm NO вызвали повышение продуктов деградации NO. Ингаляции NO в концентрации 50ppm здоровых крыс привели к повышению суммарных конечных продуктов деградации NO, нитритов и нитратов во всех субклеточных фракциях сердца > почек > легких. В печени статистически значимых изменений NO<sub>x</sub> и нитритов при ингаляциях NO в концентрации 50ppm и 100ppm не выявлено, лишь возрос уровень нитратов во всех субклеточных фракциях печени. Ингаляции 100ppm NO здоровых крыс привели к повышению суммарных конечных продуктов деградации NO, нитритов и нитратов в субклеточных фракциях сердца > почек > легких. Следует отметить, что активирующий эффект ингаляций NO на уровень NO в сердце, почках и легких проявился с ростом концентраций NO (чем выше концентрация NO, тем выше уровень NO).

Ферменты митохондриальной дыхательной цепи входят в спектр биомишеней NO и его метаболитов [445; 448; 583]. NO, действуя на митохондрии, может вызвать развитие как адаптивных реакций, так и патологических изменений в клетке [296; 831]. В избытке NO депонируется, связываясь с белками и пептидами, мигрирует в межклеточное пространство и клетки других органов, оказывая сигнальное, защитное или повреждающее действие и играя важную роль в адаптации организма к повреждениям, вызванным дефицитом или гиперпродукцией свободных радикалов [351].

#### **Выводы по главе 3.4.**

1. КТТ сопровождалась гиперпродукцией NO в плазме крови на 1, 7 и 10 сутки после травмы и уменьшением в субклеточных фракциях органов (наибольшее – в цитозоле, меньшее – в митохондриях) в ряду: почки > печень > легкие > сердце. Максимальное изменение суммарных конечных продуктов деградации NO в крови и органах отмечено на 1 сутки после КТТ.

2. У здоровых животных максимальное содержание суммарных нитритов и нитратов выявлено в печени> почках> легких> сердце.

3. Введение ДНКЖ здоровым крысам стимулировало образование NO<sub>x</sub>, нитритов и нитратов, наиболее выраженное в легких> сердце> почках. Ингаляции NO здоровых крыс в концентрации 20ppm вызвали повышение NO<sub>x</sub>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup> и NO<sub>3</sub><sup>-</sup> только в субклеточных фракциях сердца. Ингаляции здоровых крыс NO в концентрации 50ppm и 100ppm вызвали дозозависимый рост (чем выше концентрация NO, тем выше уровень NO) суммарных конечных продуктов деградации NO, нитритов и нитратов в субклеточных фракциях сердца> почек> легких.

4. Применение ДНКЖ при КТТ привело к повышению NO<sub>x</sub>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup> и NO<sub>3</sub><sup>-</sup> в субклеточных фракциях органов: почки> печень> легкие> сердце. Ингаляции NO (20ppm) при КТТ также повысили концентрацию NO<sub>x</sub>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup> и NO<sub>3</sub><sup>-</sup> в гомогенате, цитоплазматической и митохондриальной фракциях легких> почек> сердца> печени, что свидетельствовало о возможности использования ДНКЖ и иNO в качестве терапевтических агентов.

### **3.5. Характеристика морфологических изменений, развивающихся в легких при комбинированной термической травме на фоне ингаляций оксида азота и синглетного кислорода, и при их системном хроническом применении**

#### **3.5.1. Морфологические изменения, развивающиеся в легких при термической травме**

Проведенное исследование показало, что гистологическое строение лёгочной ткани здоровых крыс соответствовало общим структурным

закономерностям, характерным для легких млекопитающих [101; 134; 284]. Снаружи лёгкие крыс были покрыты серозной оболочкой толщиной  $20,1 \pm 0,9$  мкм, состоящей из плоского мезотелия и подэпителиального соединительнотканного слоя, пронизанного сетью капилляров. Большую часть паренхимы лёгких занимали легочные альвеолы, разделенные тонкими альвеолярными перегородками. Диаметр просвета альвеол, находящихся в периферических и центральных отделах легких, составил  $30,36 \pm 1,32$  мкм. Количество альвеол в одном поле зрения микроскопа (ув.  $\times 10$ ) насчитывало  $7,05 \pm 0,28$ . Слизистая оболочка бронхов образовывала складки (фестоны), сформированные эпителием и собственным слоем слизистой оболочки. Изнутри бронхи выстланы однослойным многорядным призматическим эпителием с гиперхромными ядрами овальной формы. Мышечную пластинку бронхов образовывали гладкомышечные клетки, собранные в пучки и разделенные соединительнотканными прослойками.

Адвентиция бронхов состояла из клеточных элементов с округлыми и овальными ядрами, интенсивно окрашенными гематоксилином. У здоровых животных в капиллярах наблюдались агрегаты эритроцитов, локальная деструкция эндотелия капилляров с обнажением базальной мембраны и накоплением пиноцитозных пузырьков в просвете капилляра, что отмечено также другими авторами и, очевидно, является видовыми особенностями анатомического строения лёгкого крысы [171].

На гистологических срезах трахеи и легких интактных крыс патологических изменений не выявлено: повреждений в альвеолах и сосудах не было; эритроциты и отечная жидкость не обнаружены (рис. 87А, Б).

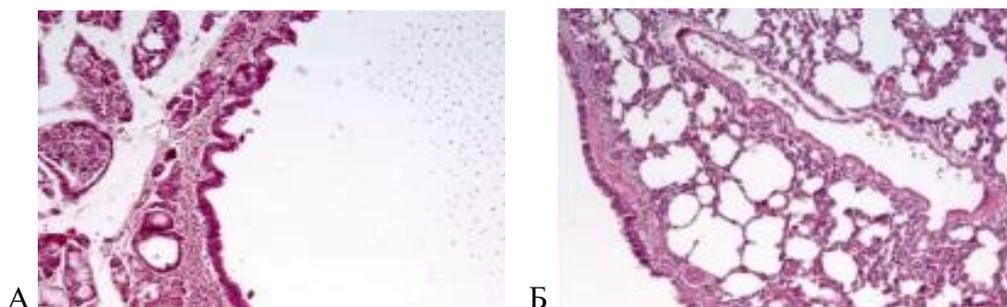


Рис. 87. Микрофотография А – трахеи крысы интактной группы, ув.  $\times 10$ ; Б – верхней доли легкого крысы интактной группы, ув.  $\times 20$ . Окраска: гематоксилин-эозин.

При макроскопической оценке легких крыс с КТТ на 1 сутки после поражения по сравнению со здоровыми животными отмечено увеличение воздушности легочной ткани местами до острого очагового эмфизематозного вздутия и явлений краевой эмфиземы: легкие были увеличены, раздуты. Висцеральная плевро лёгких была гладкой и блестящей. На поверхности легких и в плоскости разреза долей встречались кровоизлияния. В состоянии шока внутрилегочные бронхи были расширены, просветы крупных бронхов заполнены светлым слизистым экссудатом. В них можно было отметить прожилки черного цвета (примесь копоти, сажи), что является одним из диагностических признаков поражения дыхательных путей при КТТ.

При микроскопическом исследовании у крыс на 1 сутки после КТТ в легочной ткани очаги острой эмфиземы чередовались с зонами дис- и ателектазов, являясь универсальной реакцией легких на ожог кожных покровов. На гистологических срезах тканей легких в состоянии шока бронхи были в состоянии бронхоспазма. В бронхах обнаружены эритроциты, слизь, альвеолярные макрофаги, сегментоядерные лейкоциты, бронхиальный эпителий. Через 24 часа после КТТ в просвете трахеи содержались слизистые массы, альвеолярные макрофаги, лейкоциты, многорядный мерцательный эпителий слизистой трахеи [60], лишенной покровного эпителия (рис. 88А). Во втором образце биоптата трахеи (рис. 88Б) и бронхиальном содержимом обнаруживались частицы копоти и сажи.

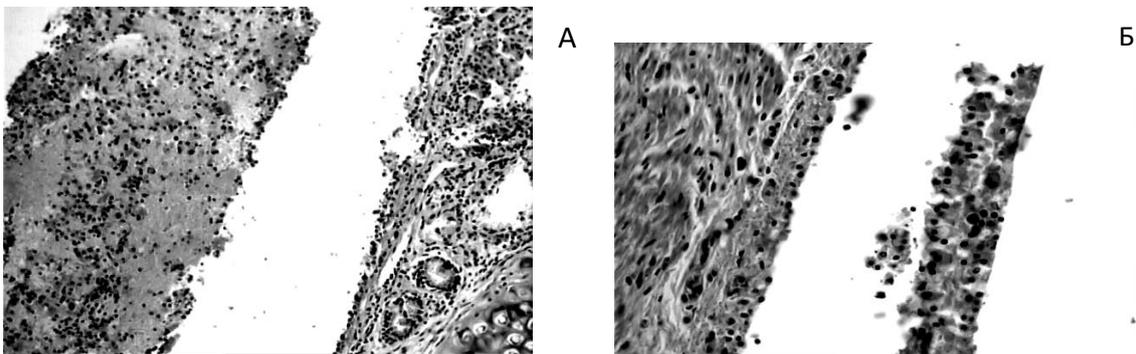


Рис. 88. Морфологическая картина трахеи при КТТ (1 сутки) у крыс.

Окраска гематоксилин-эозином, ув.  $\times 56$ . А, Б – участки биоптата трахеи.

Через 24 часа после КТТ в легком наблюдались: кровоизлияния, снижение воздушности и отек легочной ткани, в сосудах – сладж (рис. 89А), отек соединительной ткани перисосудистого пространства (рис. 89Б). В легочном сосуде (рис. 89В) и легочной ткани (рис. 89Г) обнаруживались частицы копоти [60].

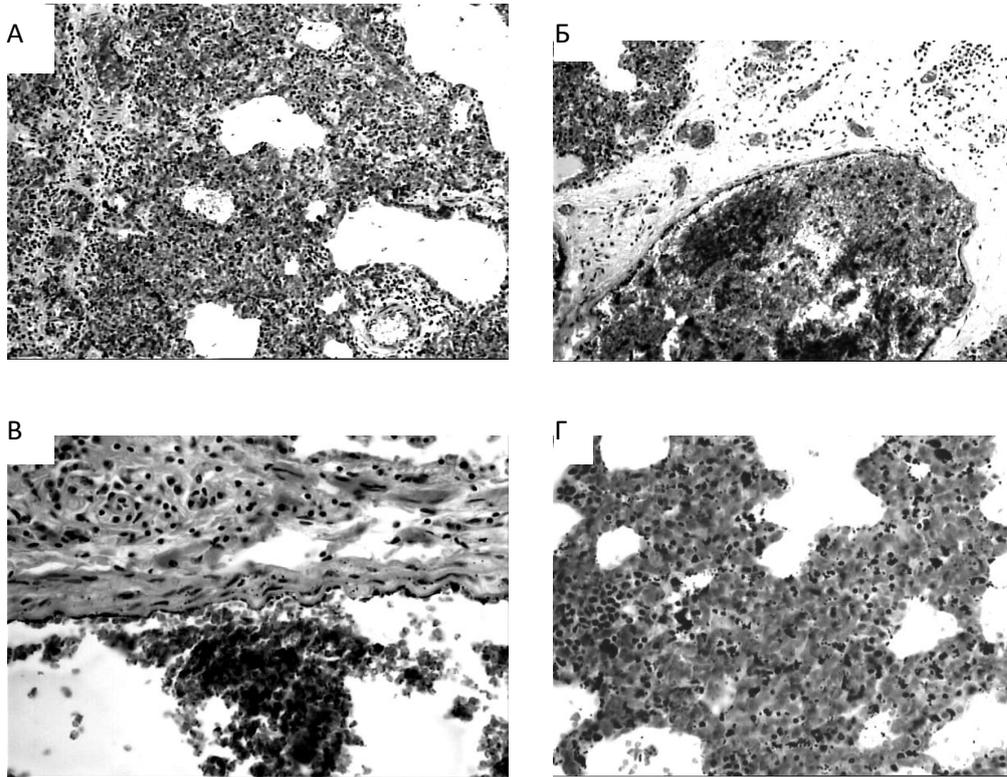


Рис. 89. Морфология легочной ткани крыс при КТТ (1 сутки). Окраска гематоксилин-эозином, ув.  $\times 56$ . А-Г – участки биоптата легочной ткани.

Для первых суток ожогового шока характерно развитие мелких очагов воспаления, захватывающих группы альвеол, первичных альвеолитов, в легочной ткани крыс обнаруживались кровоизлияния, которые при КТТ могут быть следствием деструкции микрососудистого русла, вызванной воздействием термического или ингаляционного агента [44]. В зонах этих кровоизлияний наряду с множественными сладжами и тромбами обнаруживались участки инфарктов легочной ткани. Проведенное морфометрическое исследование выявило увеличение среднего диаметра альвеол у крыс с КТТ, по сравнению с интактными животными, – на 162,7 % (с  $31,26 \pm 1,15$  до  $82,12 \pm 2,67$ ,  $p=0,003$ ) в левом лёгком и на 211,6 % (с

29,94±1,04 до 93,29±2,49,  $p=0,004$ ) в правом [171].

Морфологические изменения легких крыс в период ожогового шока (повышение воздушности легочной ткани, вплоть до эмфиземы, бронхоспазм и повышенный выход альвеолярных макрофагов в полость альвеол) являются характерным признаком формирования ответной реакции организма на тяжелый стресс [84]. Патофизиологический механизм регулирования воздушности легочной ткани может включать активность сурфактанта, ингибирование которого сопровождается спадением легочной ткани.

На гистологических срезах тканей легких крыс на 7 сутки КТТ выявлены типичные критерии отека. Межалвеолярные перегородки были утолщены за счет интерстициального отека. Наблюдалось появление отечной жидкости в альвеолах, что свидетельствует о наличии альвеолярного отека. В просветах сосудов появились агрегаты эритроцитов в виде «монетных столбиков» (рис. 90А), что является патологическим явлением, повышающим вязкость крови. Также были обнаружены эритроциты, вышедшие в просвет альвеол вследствие нарушения целостности капилляров и ткани легкого (рис. 90Б). Выявленные изменения доказывают вовлечение в патологический процесс наряду с легочной тканью системы крови [376].

Гистологическая картина срезов тканей легких крыс на 7 сутки после КТТ обнаружила изменения, присущие стадии ожогового шока, включающие полнокровие легких. В альвеолах отмечались пристеночные глыбчатые отложения аморфных эозинофильных белковых масс или нитей фибрина. Часто встречались сладжи, имел место выраженный мегакариоцитоз. Дис- и ателектазы встречались реже по сравнению с 1 сутками, но присутствовал бронхоспазм (рис. 91А). В просветах бронхов содержались слизисто-гнойные массы и пласты бронхиального эпителия.

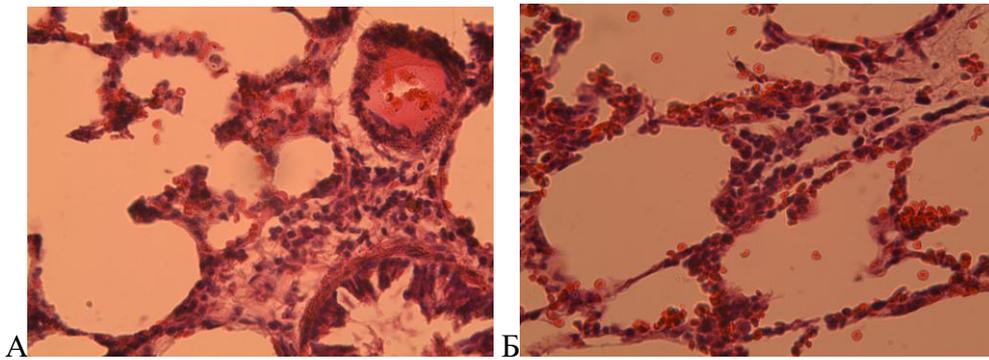


Рис. 90. Микрофотография гистологического среза ткани легких крыс через 7 суток после комбинированной термической травмы. Окраска: гематоксилин-эозином, ув.  $\times 56$ .

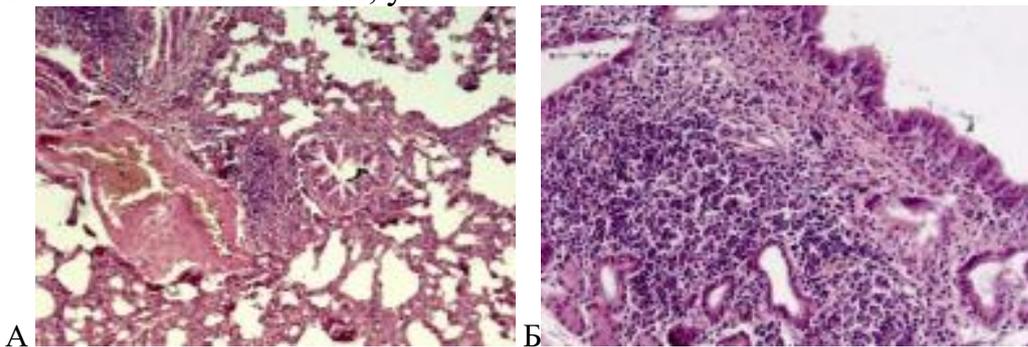


Рис. 91. Микрофотография А – верхней доли легкого, ув.  $\times 10$ . Б – трахеи, ув.  $\times 20$ , через 7 суток после комбинированной термической травмы. Окраска: гематоксилин-эозином.

В межальвеолярных перегородках, адвентиции сосудов и бронхов отмечалась клеточная пролиферация, характеризующаяся накоплением фибробластов. В препаратах выявлены альвеолярные макрофаги. Средний диаметр альвеол у крыс с КТТ (7 сутки) вырос по сравнению с интактными животными на 149,11% (с  $30,36 \pm 1,32$  до  $75,63 \pm 2,44$ ,  $p=0,001$ ). Через 7 суток после КТТ в эпителии трахеи происходила гибель клеток с развитием воспалительного процесса в подслизистой, на препарате определялись альвеолярные макрофаги, лейкоциты (рис. 91Б).

Итак, на 7 сутки характерно ослабление изменений, выявленных на 1 сутки КТТ: острых нарушений кровообращения, воздушности легочной ткани и сосудистой проницаемости. Однако, интенсифицировалась клеточная пролиферация стромы легкого и альвеолярных макрофагов, прогрессирование воспалительных процессов.

Гистологические изменения легких на 10 сутки после КТТ характеризовались различной степенью и неоднородностью воздушности

легочной ткани, отдельными зонами острого эмфизематозного вздутия, незначительным количеством мегариоцитов. Кровенаполнение легких было повышенным (рис. 92А), имелись сладжи и тромбы (рис. 92Б). В бронхах отмечались дистрофия и атрофия бронхиального эпителия, склероза бронхиальной стенки. В адвентиции бронхов выявлена пролиферация клеток гистоцитарного и фибробластического типа.

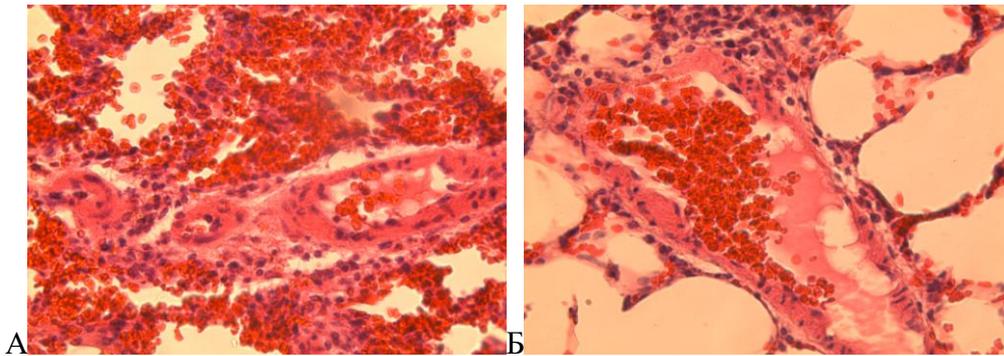


Рис. 92. Микрофотография гистологического среза ткани легких крыс через 10 суток после комбинированной термической травмы. Окраска: гематоксилин-эозином, ув.  $\times 56$ .

Выявлено повышение среднего диаметра альвеол у крыс с КТТ на 10 сутки после травмы по сравнению с интактными животными на 101,4 % (с  $30,36 \pm 1,32$  до  $61,15 \pm 1,98$ ,  $p=0,0004$ ). Межалвеолярная перегородка истончилась соответственно на 49,29 % (с  $14,02 \pm 0,79$  до  $7,11 \pm 0,98$ ,  $p=0,011$ ) слева и на 53,39 % (с  $13,15 \pm 0,71$  до  $6,13 \pm 0,82$ ,  $p=0,007$ ) справа. Эксперимент показал, что в эпителии трахеи на 10 сутки после КТТ происходило частичное восстановление патологических изменений клеток (рис. 93).



Рис. 93. Микрофотография трахеи крысы на 10 сутки после комбинированной термической травмы. Окраска: гематоксилин-эозином, ув.  $\times 10$ .

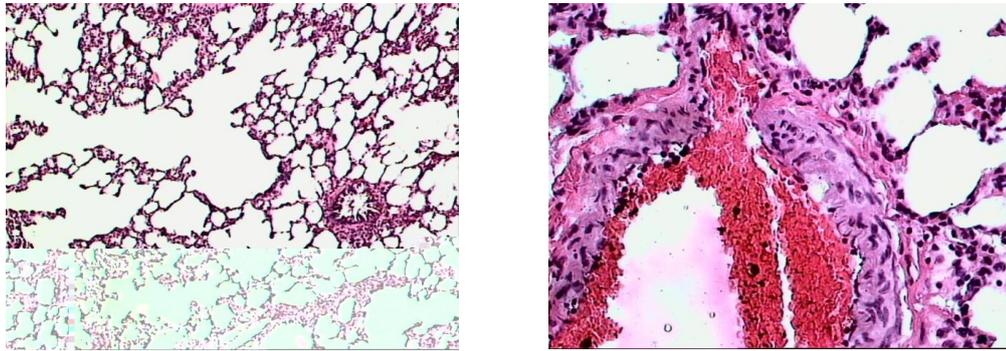
Таким образом, исследование гистологических срезов легких позволило выявить, главным образом, три вида изменений, возникающих

непосредственно после КТТ: изменение воздушности легочной ткани, вплоть до острой эмфиземы и развития явлений бронхоспазма, наличие острого альвеолярного отека; нарушение кровообращения в виде резкого полнокровия, образования стазов в капиллярах, сладжей и тромбов, мобилизация лейкоцитов, мегакариоцитов и повышенной сосудистой проницаемости; клеточная реакция респираторного отдела легких, которая проявлялась повышенным выходом альвеолярных макрофагов в полость альвеол. На функцию бронхов оказывают влияние образующиеся в легком при шоке и переносимые в него кровью медиаторы и биологически активные вещества (серотонин, гистамин, кинины и др.). Появление ателектазов обусловлено спазмом бронхиол, имеет рефлекторную природу. Ингаляции горячего воздуха и паров при КТТ воздействуют на сурфактантную выстилку альвеол, что также вызывает возникновение ателектазов [4; 6]. Полнокровие легких при КТТ с открытием на этом фоне артерио-венозных анастомозов, является признаком шунтирования легочного кровотока. Фибробластическая пролиферация, отмеченная на 7 сутки после КТТ, вероятно, обусловлена расстройством кровообращения и сосудистой проницаемости, а также аутоиммунной агрессией [340]. Высказано предположение, что в патогенезе формирования морфологических изменений легких крыс с КТТ существенная роль принадлежит переднему отделу гипоталамуса [44].

### **3.5.2. Морфологические изменения ткани легких на фоне системного хронического применения оксида азота в различных концентрациях**

При проведении токсикологического эксперимента по морфологическим изменениям тканей легких решались задачи определения переносимых и токсических концентраций NO и СК, изучение степени обратимости вызываемых АФК изменений ткани легких после хронического длительного воздействия АФК и АФА на организм для последующего использования оптимальных концентраций при экспериментальном травматическом стрессе. Показано, что ингаляции NO в течение 30 дней

привели к развитию определенных адаптивных или патологических процессов, выраженность которых зависела от концентрации NO. При 30-дневном использовании 20ppm NO в лёгких отмечены адаптационные изменения со стороны сосудистой и бронхиальной систем в виде повышения тонуса отдельных ветвей легочной артерии и неравномерного повышения тонуса гладкой мускулатуры бронхов, что сопровождалось неравномерным повышением воздушности легочной ткани, преимущественно по периферии органа, где было выявлено снижение кровотока (рис. 94А).



А

Б

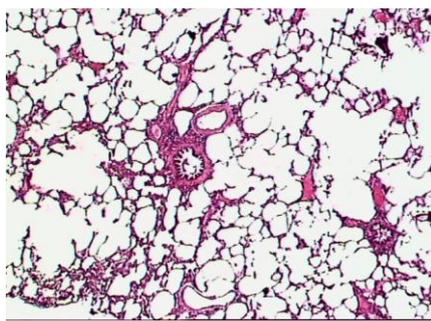
Рис. 94. Микрофотография гистологического среза ткани легких крысы на фоне 30-дневного применения 20ppm NO. А – ок. 10, об. 40; Б – ок. 10, об. 100. Окраска: гематоксилин - эозин.

В других участках легких воздушность легочной ткани оставалась нормальной. У одного животного наблюдались мозаично разбросанные мелкие ателектазы. На фоне спазма части легочных артерий у всех животных имело место венозное полнокровие (рис. 94Б). Под воздействием 20ppm NO отмечалось незначительное снижение количества участков неизменной паренхимы относительно интактных крыс на 3% ( $p=0,094$ ) за счет увеличения доли ателектазов на 4,5% ( $p=0,072$ ).

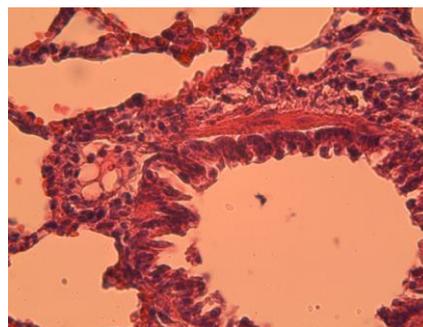
Выявленные морфологические изменения легких при хроническом (30 дней) применении NO в концентрации 20ppm характерны и для легких при использовании 50ppm NO, но степень их выраженности возросла: отмечалось повышение воздушности легочной ткани вплоть до развития на значительных участках острого эмфизематозного вздутия с разрывами альвеол и их объединением в большие полости (рис. 95А). На 30-е сутки применения 50ppm NO у крыс количество участков эмфизематозного

изменения альвеол увеличилось на 12,3% ( $p=0,034$ ), и участков ателектазов – на 8,4% ( $p=0,046$ ). Проведенное морфометрическое исследование показало увеличение среднего диаметра альвеол у крыс после 30-дневного применения 50ppm NO, по сравнению с интактными животными, – на 69,64% (с  $31,26\pm 1,15$  до  $53,03\pm 1,67$ ,  $p=0,021$ ) в левом лёгком и на 86,67% (с  $29,94\pm 1,04$  до  $55,89\pm 1,87$ ,  $p=0,016$ ) в правом. Отмечено повышение тонуса внутриорганных бронхов и сопровождающих их ветвей легочной артерии. Обнаружены артерио-венозные анастомозы, повышенное кровенаполнение легочных вен. Количество участков неизменной паренхимы снизилось на 4,9% ( $p=0,063$ ). Отмечался отек межальвеолярных перегородок. В просвете альвеол наблюдалось небольшое количество отечной жидкости.

Системное (30 дней) применение NO в концентрации 100ppm привело к повышению тонуса бронхов вплоть до бронхоспазма, развитию острой эмфиземы в легочной ткани, захватывающей у отдельных животных тотально все легкое или части его долей. Тонус артериальных сосудов был повышен, но в меньшей степени, чем бронхов. Мышечный слой легочных артерий гипертрофирован, определялись артерио-венозные анастомозы. В легочных венах отмечались участки некроза стенок вен (рис. 96). Количество участков неизменной паренхимы уменьшилось на 15,56% ( $p=0,027$ ).



А



Б

Рис.95. Микрофотография гистологического среза ткани легких крысы при длительном применении 50ppm NO; А – 30 дней, ок. 10, об. 40; Б – после восстановительного периода (60 суток), ок. 10, об. 100. Окраска: гематоксилин - эозин.

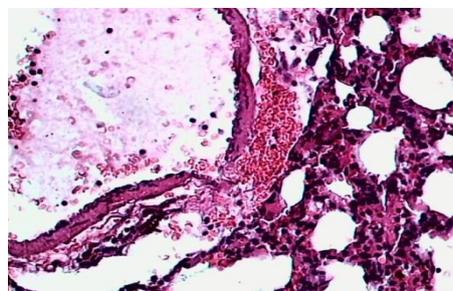
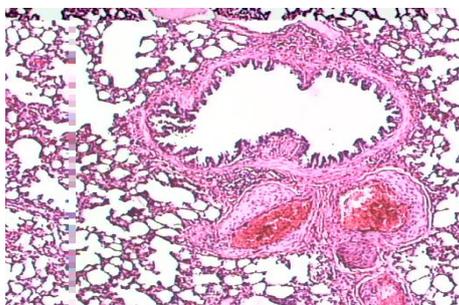


Рис. 96. Микрофотографии гистологического среза ткани легких крысы на фоне 30-дневного применения 100ppm NO. Окраска: гематоксилин - эозин, ок. 10, об. 40.

Итак, длительное применение (30 суток) NO привело к повышению тонуса бронхов, следствием чего явилось развитие эмфиземы легких. Повышение тонуса ветвей легочной артерии сопровождалось шунтированием легочного кровотока и способствовало развитию гипоксии. Высокие концентрации NO оказали токсическое действие на стенки сосудов, что привело к явлениям ангионекроза в легочных венах.

На основании полученных результатов можно констатировать, что длительная ингаляция NO оказала негативное влияние на легкие крыс с ростом концентрации NO. При использовании 20ppm NO в легких отмечены явления ателектаза. Под воздействием 50ppm NO наблюдали увеличение участков эмфизематозно измененных альвеол. Применение 100ppm NO привело в легких к явлениям эмфиземы, отмечалось истончение межальвеолярных перегородок, расширение терминальных и респираторных бронхиол. Через 60 суток после использования 20ppm NO воздушность легочной ткани преимущественно была нормальной (рис. 97А), наблюдалась нормализация тонуса отдельных ветвей легочной артерии и мускулатуры бронхов, отмечено повышение количества участков нормальной паренхимы легких относительно крыс, подвергшихся воздействию NO на протяжении 30 суток на 2% ( $p=0,087$ ). Через 60 суток после окончания хронического эксперимента у животных в отдельных капиллярах отмечалась незначительная агрегация эритроцитов и местами деструкция эндотелия капилляров, что характерно также для ткани легких здоровых крыс.

На 60-е сутки эксперимента после воздействия 50ppm NO уменьшилось количество участков эмфизематозного изменения альвеол на 9,8% ( $p=0,040$ ), участков ателектазов – на 7,2% ( $p=0,028$ ) относительно животных с 30-

дневными ингаляциями NO. При морфометрическом анализе легких крыс выявлено уменьшение отека межальвеолярных перегородок (рис. 95Б). Количество участков нормальной паренхимы легких возросло на 3% по сравнению с показателем крыс, получавших 30-дневные ингаляции NO. В бронхах наблюдалось небольшое количество слизи, единичных лейкоцитов.

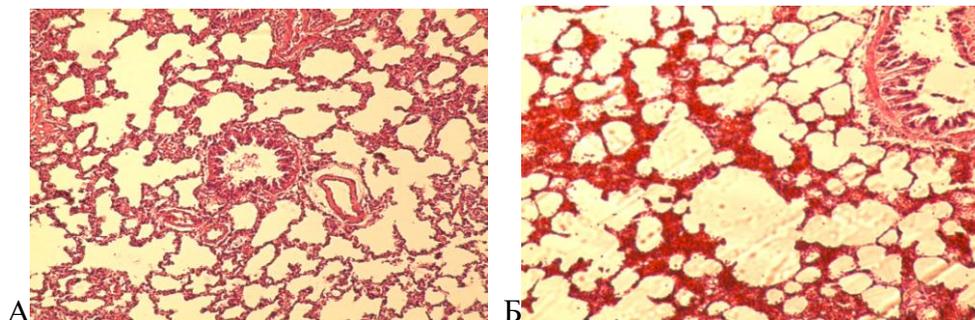


Рис. 97. Микрофотография гистологического среза ткани легких крысы после восстановительного периода (60 суток) при длительном применении А – 20ppm NO; Б – 100ppm NO. Окраска: гематоксилин - эозин, ок. 10, об. 40.

При сравнении опытных групп (30-е и 60-е сутки) в последней отмечалось уменьшение процентного содержания участков эмфизематозно расширенных альвеол на 13,7% ( $p=0,001$ ) и снижение участков ателектазов на 7,8% ( $p=0,013$ ). Однако на 60-е сутки в легких наблюдались явления эмфиземы: расширение терминальных и респираторных бронхиол, просветов альвеол с истончением межальвеолярных перегородок, местами сохранялся отек межальвеолярных перегородок (рис. 97Б).

Длительное применение 100ppm NO привело к воспалению слизистой оболочки бронхов, гиперсекреции слизи, вызвало развитие фиброза и геморрагических явлений в периферических отделах лёгких крыс, которые могли способствовать возникновению и развитию заболеваний бронхо-легочной системы, что, вероятно, обусловлено способностью NO разрушать сурфактант. Выявленные изменения вызвали спадание альвеол и образование ателектазов. Согласно данным литературы, хронический воспалительный процесс в бронхах вызывает развитие эмфиземы [288].

Экспериментальные исследования не выявили гистологических повреждений легочной ткани или оксидативного повреждения при 2-х

недельной ингаляции NO (20-80 ppm) [823]. При 2-х недельной ингаляции NO в концентрации 20 ppm в течение 53 дней [787] и 50 ppm в течение 68 дней [797] у больных с респираторным дистресс-синдромом не было выявлено признаков токсического действия иNO на легочную ткань.

### **3.5.3. Морфологические изменения ткани легких на фоне системного хронического применения ингаляций газовой смеси, содержащей синглетный кислород**

Гистологическое исследование периферических отделов лёгких крыс, подвергшихся 30-дневному воздействию газовой смеси, содержащей СК, показало незначительное расширение альвеол. Межалвеолярные перегородки и местами были истончены и деформированы (рис. 98А). Встречались участки разрушения последних с образованием сообщения между соседними альвеолами. Альвеолоциты отслаивались от базальной мембраны и накапливались в полости альвеол в виде детрита. Сосуды межалвеолярных перегородок были расширены и заполнены форменными элементами крови (рис. 98Б). Морфометрически выявлено увеличение среднего диаметра альвеол у крыс, подвергшихся длительному воздействию СК, по сравнению с интактными животными, – на 73,03 % (с  $31,26 \pm 1,15$  до  $54,09 \pm 1,32$ ,  $p=0,012$ ) в левом лёгком и на 55,44 % (с  $29,94 \pm 1,04$  до  $46,54 \pm 1,65$ ,  $p=0,022$ ) в правом. Межалвеолярная перегородка истончилась соответственно на 38,88 % (с  $14,02 \pm 0,79$  до  $8,71 \pm 0,75$ ,  $p=0,011$ ) слева и на 37,19 % (с  $13,15 \pm 0,71$  до  $8,26 \pm 0,82$ ,  $p=0,007$ ) справа. Локально определялись участки легочной ткани с утолщёнными межалвеолярными перегородками, уменьшенными просветами альвеол [171]. В ткани легкого отмечены явления ателектазов. После длительного воздействия СК в гемомикроциркуляторном русле периферических отделов легких выявлены явления стаза крови, истончение стенок сосудов, наличие в них большого количества эритроцитов по сравнению с интактной группой животных. В восстановительный период после 30-дневных ингаляций СК описанные изменения в мелких бронхах не определялись [171]. На

гистологических срезах ткани легких крыс на 60 сутки эксперимента патологических изменений не отмечалось: сосуды и альвеолы без повреждений; эритроциты и отечная жидкость в ткани и альвеолах в патологических количествах отсутствовали (рис. 99).

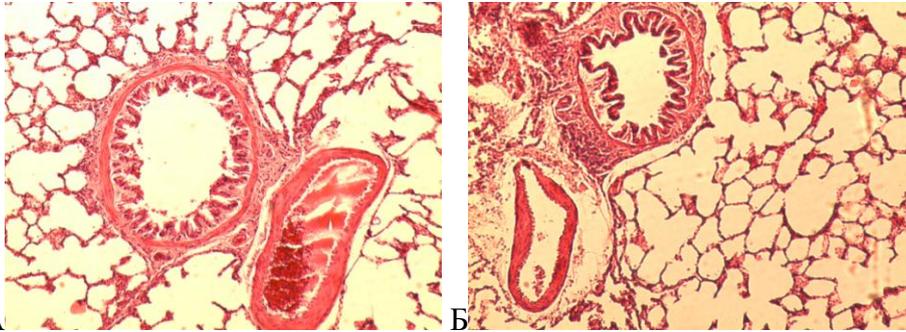


Рис. 98. Микрофотография гистологического среза ткани легких крысы на фоне 30-дневного применения газовой смеси, содержащей синглетный кислород (100%). Окраска: гематоксилин - эозин, ок. 10, об. 40.

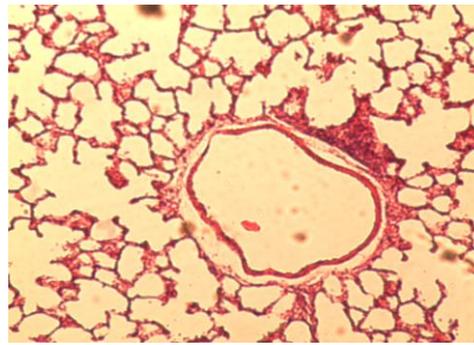


Рис. 99. Микрофотография гистологического среза ткани легких крысы после восстановительного периода (60 суток) при длительном применении газовой смеси, содержащей синглетный кислород (100%). Окраска: гематоксилин - эозин, ок. 10, об. 40.

Таким образом, длительные ингаляции газовой смесью, содержащей СК, вызвали гистологические изменения ткани легких, которые почти полностью восстановились через 30 суток после окончания курса ингаляций.

#### **3.5.4. Структурные изменения легких крыс с комбинированной термической травмой при ингаляции оксида азота**

После 10-дневной ингаляции NO от экспериментального генератора NO крыс с КТТ произошло заметное улучшение гистологической картины легочной ткани. Наблюдалось значительное снижение содержания жидкости в альвеолах и окружающей их ткани. Практически отсутствовали в ткани легких вышедшие из капилляров эритроциты. На срезах сосудов почти не

обнаруживались эритроцитарные агрегаты [376].

Однако бронхи находились в состоянии повышенного тонуса, в легких преобладали явления эмфиземы: расширение терминальных и респираторных бронхиол, просветов альвеол с истончением межальвеолярных перегородок (рис. 100 А, Б). Межальвеолярная перегородка истончилась соответственно на 27,06 % (с  $14,02 \pm 0,79$  до  $10,24 \pm 1,01$ ,  $p=0,024$ ) слева и на 15,60 % (с  $13,15 \pm 0,24$  до  $11,23 \pm 0,85$ ,  $p=0,036$ ) справа. Проведенное морфометрическое исследование показало незначительное увеличение среднего диаметра альвеол у крыс с КТТ после курса ингаляций NO, по сравнению со здоровыми животными, – на 32,12 % (с  $31,26 \pm 1,15$  до  $41,30 \pm 2,59$ ,  $p=0,038$ ) в левом лёгком и на 7,18 % (с  $29,94 \pm 1,04$  до  $32,09 \pm 2,49$ ,  $p=0,061$ ) в правом [171].

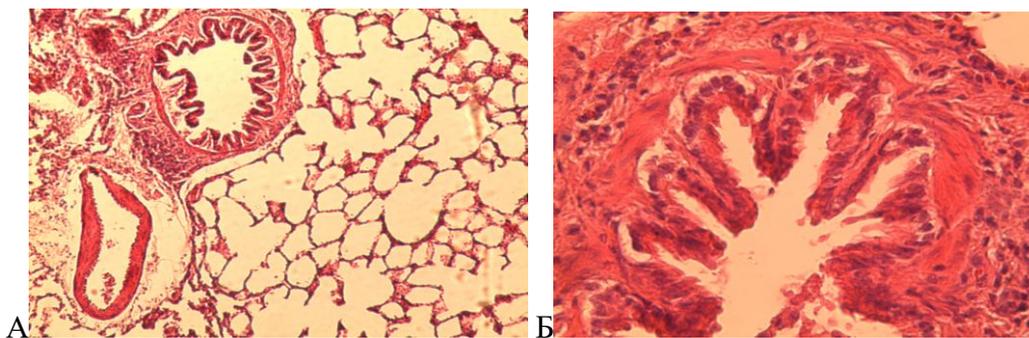


Рис. 100. Микрофотография гистологического среза ткани легких крысы с комбинированной термической травмой при ингаляции оксида азота. А – ок. 10, об. 40, Б – ок. 10, об. 100. Окраска: гематоксилин - эозин.

В просветах альвеол наблюдались макрофаги, что является отражением завершения воспалительного процесса. Характерной особенностью макрофагов было наличие темноокрашенных включений – фагосом с поглощенным материалом (вышедших в ткань и альвеолы белков, остатков разрушенной ткани и т.д.). Таким образом, курсовая ингаляция NO привела к значительному восстановлению тканей легкого и сосудов и уменьшила патологические изменения в системе кровотока.

### **3.5.5. Структурные изменения легких крыс с комбинированной термической травмой при ингаляции газовой смеси, содержащей синглетный кислород**

После 10-дневного курса ингаляций крыс СК при КТТ наблюдалась частичная нормализация гистологической картины легочной ткани: ее воздушность в целом обычная, однако встречались небольшие мозаично расположенные в центральных и периферических участках легких дис- и ателектазы, что может быть проявлением физиологических ателектазов (рис. 101Б). На фоне обычной воздушности легочной ткани в периферических отделах легкого, под плеврой, также имелись небольшие участки острого эмфизематозного вздутия. Просветы бронхов и альвеол свободны, выстилающий их эпителий без патологических изменений. Кровенаполнение обычное. Тонус бронхов обычный или несколько повышенный, соответствующий тонусу сопровождающих их ветвей легочной артерии (рис. 101А). Кровоизлияний в легочной ткани не выявлено, нет и увеличенного количества альвеолярных макрофагов (рис. 102). Плевра была тонкая, без патологических изменений.

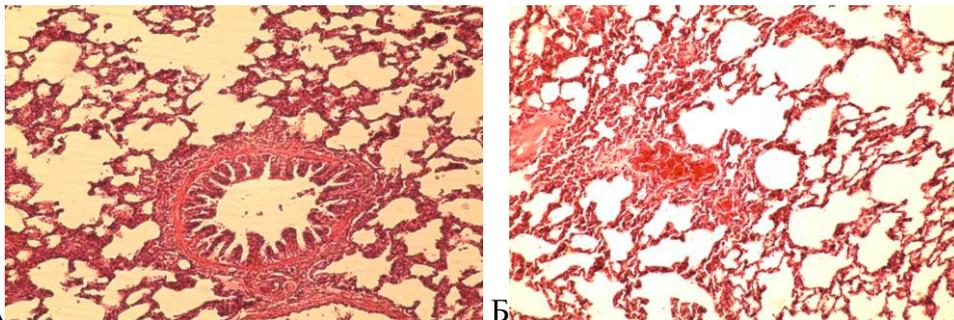


Рис. 101. Микрофотография гистологического среза ткани легких крысы с комбинированной термической травмой при ингаляции синглетного кислорода. Окраска: гематоксилин - эозин, ок. 10, об. 40.

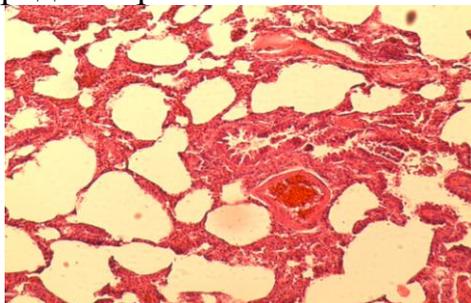


Рис. 102. Микрофотография гистологического среза ткани легких крысы с комбинированной термической травмой при ингаляции синглетного кислорода. Окраска: гематоксилин - эозин, ок. 10, об. 40.

Следует отметить, что применение газовой смеси, содержащей СК, привело также к макроскопическим изменениям раны: локально в течении

раневого процесса отмечалось ослабление экссудативной фазы воспаления у подопытных животных, что выражалось в значительно меньшей приподнятости краев раны и отсутствии серозно-гнойного отделяемого, у большинства подопытных животных выражены процессы активной эпителизации. Активная эпителизация ожоговой раны отмечена на 7 сутки. К 10-м суткам у части животных с КТТ произошла значительная по площади эпителизация ожоговых ран [209], что наиболее проявилось в эксперименте с ингаляциями СК. Внешний вид животных и их общее состояние значительно отличались от животных с КТТ: более активны, подвижны, не было потери в весе, активно пили воду и ели.

### **Выводы по главе 3.5.**

1. Морфологические изменения легких крыс на 1 сутки после КТТ включали повышение воздушности легочной ткани, вплоть до эмфиземы, бронхоспазм и повышенный выход альвеолярных макрофагов в полость альвеол. На 7 сутки КТТ характерно ослабление острых нарушений кровообращения, воздушности легочной ткани и сосудистой проницаемости на фоне интенсификации клеточной пролиферации стромы легкого и альвеолярных макрофагов, прогрессирования воспалительных процессов. 10 сутки после КТТ характеризовались различной степенью и неоднородностью воздушности легочной ткани, повышенным кровенаполнением легких, наличием сладжей и тромбов, дистрофией бронхиального эпителия, склерозом бронхиальной стенки.

2. Длительная ингаляция NO в течение 30 дней оказала неблагоприятное влияние на легкие крыс, усиливающееся с ростом концентрации NO: при использовании 20ppm NO отмечены явления ателектаза, повышение тонуса бронхов; под воздействием 50ppm NO увеличились участки эмфизематозно измененных альвеол. В восстановительном периоде (60 суток) после использования 20ppm NO воздушность легочной ткани, тонус отдельных ветвей легочной артерии и мускулатура бронхов нормализовались, после воздействия 50ppm NO

уменьшилось количество участков ателектазов и эмфиземы, снизился отек межальвеолярных перегородок. Хроническое применение 100ppm NO привело к воспалению слизистой оболочки бронхов, гиперсекреции слизи, эмфиземе, истончению межальвеолярных перегородок, ангионекрозу в легочных венах.

3. Ингаляции СК на протяжении 30 дней вызвали гистологические изменения ткани легких (незначительное расширение альвеол, местами истончение межальвеолярных перегородок и стенок сосудов и явления ателектазов легочной ткани, расширение сосудов межальвеолярных перегородок и заполнение их форменными элементами крови), которые почти полностью восстановились через 60 суток после окончания ингаляций.

4. Десятидневный курс ингаляции 20ppm NO при КТТ способствовал восстановлению ткани легкого и сосудов и уменьшению патологических изменений в системе кровотока: снизилось количество жидкости в альвеолах и окружающей их ткани, практически отсутствовали в ткани легких вышедшие из капилляров эритроциты, но бронхи находились в состоянии повышенного тонуса, терминальные и респираторные бронхиолы были расширены, в просветах альвеол наблюдались макрофаги. Ингаляции СК при КТТ вызвали нормализацию ткани легкого (воздушность ткани обычная с небольшими участками ателектазов, просветы бронхов и альвеол свободны, тонус бронхов обычный или несколько повышенный) и ожоговой раны в целом (отсутствие серозно-гнойного отделяемого, активная эпителизация).

### **3.6. Оценка взаимосвязи биохимических показателей окислительного, энергетического метаболизма и системы биотрансформации крови и органов в формировании ответа организма на комбинированную термическую травму**

Проведенный корреляционный анализ выявил различия во взаимосвязях между исследуемыми биохимическими показателями у крыс с КТТ. Так, в крови на 1 сутки после КТТ обнаружена обратная корреляция между показателем СРО в плазме и ЛДГобр, свидетельствуя о зависимости

данных изменений от гипоксии. Это подтвердило наличие прямой корреляции между концентрациями МДА и лактата в плазме. При гипоксии в клетке активируется анаэробный гликолиз, накапливается лактат, усиливается ацидоз, вызывая повреждение клеточных мембран, сопровождающееся инициацией ПОЛ [179; 258]. Установлена прямая корреляция между уровнем МДА в эритроцитах и глюкозы на 1 сутки после КТТ (табл. 114).

Выявлена обратная корреляция между активностью ЛДГпр и ее субстратом (лактатом) в эритроцитах на 1 и 7 сутки после КТТ, отражая состояние энергетического обмена в клетках. В крови на 1 сутки после КТТ существовала положительная корреляция между активностями ЛДГпр и АлДГ, зависящими от соотношения НАД/НАДН. Также в крови на 1 сутки после КТТ отмечена положительная корреляция между концентрациями глюкозы и лактата в плазме, нитритов и нитратов, МДА в плазме и эритроцитах ( $r=0,855$ ,  $p=0,023$ ), показателем СРО в плазме и эритроцитах ( $r=0,872$ ,  $p=0,017$ ), уровнем МДА и светосуммой хемилюминесценции в плазме, показателем СРО и концентрацией нитратов в плазме, приводящими к развитию НС. Выявлена отрицательная корреляция между АлДГ и концентрацией нитритов на 1 сутки ( $r=-0,695$ ,  $p=0,025$ ), 7 сутки ( $r=-0,678$ ,  $p=0,034$ ) и 10 сутки ( $r=-0,753$ ,  $p=0,013$ ) после КТТ, АлДГ и нитратами на 1 сутки ( $r=-0,762$ ,  $p=0,018$ ), 7 сутки ( $r=-0,756$ ,  $p=0,028$ ) и 10 сутки ( $r=-0,808$ ,  $p=0,005$ ) после КТТ. Известно, что непосредственное участие в высвобождении NO из нитратов принимает АлДГ, прежде всего, ее митохондриальная изоформа [764; 826].

На 1 сутки после КТТ в крови выявлена отрицательная корреляция между показателем S в плазме и ОАА, S в эритроцитах и активностью каталазы, МДА в эритроцитах и каталазой, что свидетельствовало о развитии ОС, наличие которого подтвердила положительная корреляция между активностями каталазы и СОД, СОД и ГР. Выявлена прямая корреляция между ГР и Гл-6-фДГ на 1, 7 и 10 сутки после КТТ в крови, обеспечивая работу ГП/ГР за счет НАДФН, генерируемого Гл-6-фДГ. Существовала

обратная корреляция между активностью Гл-6-фДГ и концентрацией глюкозы в крови на 1 и 7 сутки после КТТ, в метаболизме которой Гл-6-фДГ принимает непосредственное участие.

На 7 сутки после КТТ в крови отмечалась выраженная прямая корреляция между показателями *S* в плазме и эритроцитах ( $r=0,769$ ;  $p=0,021$ ), а также *S* и МДА в плазме, уровнем МДА в плазме и эритроцитах ( $r=0,697$ ;  $p=0,023$ ), что свидетельствовало о дальнейшей интенсификации процессов СРО. При этом выявлена положительная корреляция между активностями каталазы и СОД, СОД и ГР, каталазы и ГР, МДА и лактатом в эритроцитах, *S* и лактатом в плазме, *S* и нитратами.

Отмечена отрицательная корреляция между концентрацией глюкозы и ОАА в крови крыс на 7 и 10 сутки после КТТ. Известно о снижении скорости всасывания глюкозы при остром и хроническом иммобилизационном стрессе в эксперименте. Данные изменения коррелировали с развитием ОС у животных, что выражалось в увеличении содержания первичных и конечных продуктов ПОЛ и снижении ОАА крови. Авторами доказана важная роль ПОЛ в регулировании всасывания глюкозы. При стрессе выявлено повышение концентрации глюкозы на фоне развития ОС [163].

Анализ взаимосвязей биохимических показателей в крови крыс на 10 сутки после КТТ выявил наличие положительной корреляции между МДА в плазме и эритроцитах ( $r=0,758$ ;  $p=0,015$ ), МДА и *S* в эритроцитах, показателем *S* и концентрацией нитритов в плазме, МДА и нитратами в плазме, концентрациями нитритов и нитратов. Показана положительная корреляция между ОАА и активностью СОД ( $r=0,765$ ,  $p=0,014$ ), активностью каталазы и СОД, СОД и ГР, каталазы и ГР, и отрицательная корреляция между МДА в плазме и активностью каталазы ( $r=0,758$ ,  $p=0,016$ ) на 10 сутки после КТТ. Для прогнозирования развития ЭИ организма показательно сопоставление активности каталазы в сыворотке крови и концентрации ТБК-активных продуктов [24; 153]. Выявлена положительная корреляция в крови крыс на 10 сутки после КТТ между ЛДГпр и ЛДГобр, ЛДГобр и АлДГ и

отрицательная – между ЛДГпр и концентрацией лактата в эритроцитах, отражая нарушение энергетического обмена в эритроцитах (табл. 114).

Проведенный корреляционный анализ выявил наличие взаимосвязей между показателями окислительного и энергетического метаболизма в субклеточных фракциях печени крыс с КТТ. В гомогенате печени на 1 сутки после КТТ отмечена положительная корреляция между концентрациями нитритов и нитратов, активностями каталазы и АлДГ, каталазы и АДГобр, МДА и S, ОАА и ГР, ОАА и СОД на 1 и 10 сутки, ГР и Гл-6-фДГ на 1 и 10 сутки. Известно, что глутатион ингибирует активность iNOS в гепатоцитах [722]. В гомогенате печени на 1, 7 и 10 сутки после КТТ наблюдалась прямая корреляция между ЛДГпр и АлДГ, СОД и каталазой и обратная корреляция между светосуммой хемилюминесценции и ЛДГобр на 1 сутки после КТТ. Согласно литературным источникам [538; 697; 824], работа АлДГ может быть связана с работой ЛДГ, образующих в клетках энзиматические комплексы, в составе которых ферменты функционально взаимодействуют друг с другом за счет прямого переноса участников реакции внутри одного энзиматического комплекса от одного фермента к другому.

В гомогенате печени на 7 сутки после КТТ существовала высокая положительная корреляция между ЛДГобр и АДГобр, активностью АлДГ и концентрацией нитратов, ЛДГпр и Гл-6-фДГ, активностью ГР и уровнем нитратов на 7 и 10 сутки. При этом в гомогенате печени выявлена отрицательная корреляция между показателями S и ОАА на 7 сутки после КТТ, концентрацией МДА и участвующей в ее утилизации АлДГ на 7 и 10 сутки. Анализ взаимосвязей биохимических показателей в гомогенате печени крыс на 10 сутки после КТТ показал наличие положительной корреляции между активностью каталазы и ГР и отрицательной корреляции между концентрацией МДА и ОАА, S и активностью ЛДГобр (табл. 114).

Выявлена высокая степень положительной корреляции между активностью каталазы и ЛДГпр, каталазы и ЛДГобр в цитоплазматической фракции печени на 1 сутки после КТТ. Известно, что динамика активности

каталазы в комплексе с активностью ЛДГ и изоферментного спектра ЛДГ отражает течение воспалительного процесса и цитолиз гепатоцитов [24]. Предположительно, механизм инактивации каталазы может быть связан с неконкурентным ее ингибированием ксенобиотиками [329].

В цитозоле печени на 1 сутки после КТТ выявлена положительная корреляция между ГР и Гл-6-фДГ, ЛДГобр и АДГобр, активностью ЛДГпр и АлДГ на 1, 7 сутки. В цитоплазматической части клетки окисление алкоголя в ацетальдегид сопровождается одновременным восстановлением пировиноградной кислоты в молочную с участием НАДН. При этом, увеличение активности АлДГ хорошо коррелирует с активацией ферментов энергетического метаболизма [125]. В цитозоле печени отмечена отрицательная корреляция между показателем S и активностью СОД на 1 сутки после КТТ, МДА и АлДГ на 1 и 10 сутки, МДА и АДГобр на 1 и 7 сутки, концентрацией МДА и ОАА на 1, 7 и 10 сутки после КТТ.

Проведенный корреляционный анализ выявил наличие положительной корреляции между МДА и S, активностью каталазы и СОД, каталазы и ГР, каталазы и ЛДГпр, Гл-6-фДГ и ЛДГпр, ГР и уровнем нитратов, концентрацией нитритов и нитратов в цитозоле печени на 7 сутки после КТТ.

Анализ взаимосвязей между показателями в цитоплазматической фракции печени крыс на 10 сутки после КТТ обнаружил следующие закономерности: положительную корреляцию между ЛДГпр и АлДГ, ЛДГобр и АДГобр, АлДГ и концентрацией нитратов, АлДГ и концентрацией нитритов, ГР и уровнем нитратов, МДА и S, ОАА и активностью каталазы, активностью каталазы и СОД, СОД и АДГпр, ГР и Гл-6-фДГ, каталазы и ГР, свидетельствуя о нарушении окислительно-восстановительных процессов в гепатоцитах. Установлено, что детоксикация активных метаболитов кислорода при патологии осуществляется как в реакциях окислительно-восстановительного перехода глутатиона, так и в каталазной реакции [408].

В митохондриях печени крыс была отмечена положительная корреляция между ГР и Гл-6-фДГ, активностью цитохром с оксидазы и

концентрацией нитратов на 1 сутки после КТТ, СОД и ГР на 1 и 10 сутки, активностью каталазы и АлДГ, каталазы и СОД, СДГ и цитохром *c* оксидазы на 1, 7 и 10 сутки, Гл-6-фДГ и ЛДГпр на 1, 7 сутки. Известно о взаимодействии NOS с дыхательной цепью митохондрий [747]. Также существовала отрицательная корреляция в митохондриях печени крыс между концентрацией МДА и активностью цитохром *c* оксидазы на 1 сутки после КТТ, МДА и АлДГ, показателем S и СДГ на 1 и 10 сутки (табл. 114).

В митохондриях печени выявлена высокая степень прямой корреляции между показателем S и МДА, активностью каталазы и ГР, АлДГ и концентрацией нитритов на 7 сутки после КТТ; отмечена обратная корреляция между СДГ и МДА на 7 сутки после КТТ, показателем S и ОАА – на 7 и 10 сутки; положительная корреляция между ОАА и активностью каталазы, ГР и уровнем нитратов, ЛДГпр и АлДГ – на 10 сутки после КТТ.

В гомогенате почек после КТТ выявлена положительная корреляция между ОАА и ГР, активностью СОД и АлДГ, АлДГ и АДГобр на 1 сутки, Гл-6-фДГ и ЛДГпр – на 1, 10 сутки, ГР и Гл-6-фДГ, концентрацией нитритов и нитратов – на 1, 7 сутки, активностью каталазы и ЛДГобр – на 7 сутки, каталазы и СОД, СОД и ГР, каталазы и АлДГ на 7 и 10 сутки, ЛДГобр и АлДГ, СОД и Гл-6-фДГ, СОД и АДГобр – на 10 сутки, и отрицательная корреляция между S и ОАА, МДА и активностью каталазы на 1 и 10 сутки, концентрацией МДА и ГР, МДА и ОАА – на 7 и 10 сутки (табл. 114).

В цитозоле почек выявлена прямая корреляция между концентрацией нитритов и нитратов, Гл-6-фДГ и ЛДГпр на 1 сутки после КТТ, каталазой и АлДГ, ГР и Гл-6-фДГ на 1, 7 и 10 сутки, показателем S и МДА, СОД и ЛДГобр на 7 сутки после КТТ, ОАА и активностью ГР на 7 и 10 сутки, ЛДГобр и АлДГ, АлДГ и АДГобр, СОД и АДГпр на 10 сутки после КТТ и обратная корреляция между S и ОАА на 1 и 10 сутки, МДА и СОД на 1 и 7 сутки, концентрацией МДА и нитритов на 10 сутки после КТТ.

В митохондриях почек на 1 сутки после КТТ отмечена положительная корреляция между активностью ЛДГпр и АлДГ, СДГ и цитохром *c*

оксидазой, ГР и Гл-6-фДГ, Гл-6-фДГ и ЛДГпр, СОД и АДГобр, СОД и каталазы, ОАА и СОД, кроме того отрицательная корреляция между показателем S и ГР, концентрацией МДА и активностью каталазы, МДА и активностью цитохром *c* оксидазы (табл. 114). Корреляционный анализ выявил положительную корреляцию между активностью СДГ и цитохром *c* оксидазы, ЛДГпр и АлДГ, каталазы и АлДГ, СОД и АДГобр, каталазы и ГР, СОД и ГР, ГР и Гл-6-фДГ, ОАА и ГР, и обратную корреляцию между МДА и ОАА, показателем S и ОАА, МДА и активностью каталазы, МДА и СДГ, МДА и цитохром *c* оксидазой в митохондриях почек на 7 сутки после КТТ.

Анализ взаимосвязей обнаружил положительную корреляцию между активностью ЛДГпр и АлДГ, АлДГ и АДГобр, СДГ и цитохром *c* оксидазы, ГР и Гл-6-фДГ, Гл-6-фДГ и ЛДГпр, каталазы и СОД, каталазы и АлДГ, СОД и АДГобр, ОАА и ГР, ОАА и СОД, и отрицательную корреляцию между МДА и ОАА, S и ОАА, МДА и СДГ, МДА и цитохром *c* оксидазой в митохондриях почек на 10 сутки после КТТ (табл. 114). В гомогенате сердца на 1 сутки КТТ выявлена положительная корреляция между ЛДГпр и АлДГ, АлДГ и АДГобр, каталазы и СОД, СОД и ЛДГобр, СОД и ГР, ГР и Гл-6-фДГ, ОАА и активностью каталазы, а также отрицательная корреляция между показателем S и СОД, показателем S и ГР. Отмечена прямая корреляция между активностью ЛДГпр и АлДГ, ЛДГобр и АлДГ, ГР и Гл-6-фДГ, СОД и ГР, каталазы и СОД, каталазы и ГР, СОД и ЛДГобр, ОАА и активностью каталазы, и обратная корреляция между МДА и активностью каталазы, МДА и ГР, показателем S и ОАА в гомогенате сердца на 7 сутки после КТТ. Корреляционный анализ показал наличие положительной корреляции между активностью ЛДГпр и АлДГ, АлДГ и АДГобр, каталазы и ЛДГобр, каталазы и СОД, ОАА и каталазой, а также отрицательной корреляции между S и ОАА, МДА и СОД в гомогенате сердца на 10 сутки после КТТ.

Выявлена положительная корреляция между активностью ЛДГобр и АлДГ, АлДГ и АДГобр, ОАА и активностью каталазы, ОАА и СОД, активностью каталазы и ГР, каталазы и ЛДГобр, каталазы и АлДГ, ГР и Гл-

6-фДГ и отрицательная корреляция между МДА и активностью каталазы, МДА и СОД, светосуммой биохемиллюминесценции и ОАА в цитоплазматической фракции сердца на 1 сутки после КТТ. В цитозоле клеток сердца на 7 сутки после КТТ отмечена прямая корреляция между активностью ЛДГпр и АлДГ, каталазы и ЛДГобр, ОАА и СОД, ОАА и каталазой, а также отрицательная корреляция между показателем S и ОАА, МДА и активностью каталазы, МДА и СОД, МДА и ГР. Наблюдалась положительная корреляция между активностью ЛДГпр и АлДГ, АлДГ и АДГобр, каталазы и АДГобр, каталазы и СОД, СОД и ГР, ГР и Гл-6-фДГ, каталазы и ГР, ОАА и активностью каталазы и обратная корреляция между показателем S и ОАА, МДА и активностью каталазы, МДА и СОД, МДА и ГР в цитоплазматической фракции сердца на 10 сутки после КТТ (табл. 114).

Отмечена прямая корреляция между активностью АлДГ и АДГобр, ОАА и активностью каталазы, активностью каталазы и СОД, каталазы и АДГобр, ОАА и СОД, СОД и ЛДГобр, ГР и Гл-6-фДГ, СДГ и цитохром с оксидазы, и обратная корреляция между МДА и активностью каталазы, МДА и ГР в митохондриях сердца на 1 сутки после КТТ. На 7 сутки после КТТ в митохондриях сердца была положительная корреляция между активностью ЛДГобр и АлДГ, СОД и ЛДГпр, каталазы и АлДГ, каталазы и СОД, ГР и Гл-6-фДГ, ОАА и СОД, и отрицательная корреляция между МДА и активностью каталазы, МДА и ГР, показателем S и СОД. В митохондриях сердца на 10 сутки после КТТ выявлена положительная корреляция между активностью ЛДГобр и АлДГ, АлДГ и АДГобр, каталазы и АДГобр, каталазы и СОД, СДГ и цитохром с оксидазы, ОАА и СОД, и отрицательная корреляция между МДА и активностью каталазы, МДА и ГР, показателем S и СОД.

Корреляционный анализ показал наличие положительной корреляции между МДА и показателем S, активностью АлДГ и АДГобр, каталазы и ЛДГобр, каталазы и АлДГ, каталазы и СОД, ГР и Гл-6-фДГ, Гл-6-фДГ и ЛДГпр, и отрицательной корреляции между показателем S и активностью каталазы, концентрацией МДА и ОАА в гомогенате легких крыс на 1 сутки

после КТТ. Выявлена прямая корреляция между активностью ЛДГпр и АлДГ, каталазы и ЛДГобр, каталазы и АДГобр, СОД и ГР, концентрациями нитритов и нитратов, МДА и светосуммой биохемилюминесценции, а также обратная корреляция между показателем S и СОД в гомогенате легких на 7 сутки после КТТ. На 10 сутки после КТТ в гомогенате легких отмечена положительная корреляция между активностями ЛДГпр и АлДГ, АлДГ и АДГобр, каталазы и СОД, каталазы и АлДГ, ГР и Гл-6-фДГ, Гл-6-фДГ и ЛДГпр, концентрациями нитритов и нитратов, МДА и S, и отрицательная корреляция между МДА и ОАА, показателем S и активностью каталазы.

Анализ взаимосвязей биохимических показателей выявил наличие положительной корреляции между активностью ЛДГпр и АлДГ, АлДГ и АДГобр, каталазы и АДГобр, ГР и Гл-6-фДГ, ОАА и СОД, ОАА и ГР, ОАА и активностью каталазы и отрицательной корреляции между ОАА и показателем S в цитоплазматической фракции легких на 1 сутки после КТТ. Отмечена положительная корреляция между активностью ЛДГпр и АлДГ, ЛДГобр и АлДГ, каталазы и АДГпр, ГР и Гл-6-фДГ, Гл-6-фДГ и ЛДГпр, ОАА и СОД и отрицательная корреляция между МДА и ОАА, показателем S и активностью каталазы в цитоплазматической фракции легких на 7 сутки после КТТ. Корреляционный анализ показал наличие прямой корреляции между активностью ЛДГпр и АлДГ, АлДГ и АДГобр, каталазы и ЛДГобр, каталазы и АДГобр, ОАА и активностью каталазы, ОАА и СОД, концентрацией нитритов и нитратов, а также отрицательной корреляции между МДА и ОАА, МДА и активностью каталазы, показателем S и ОАА, S и ГР в цитоплазматической фракции легких на 10 сутки после КТТ.

Выявлена положительная корреляция между активностью ЛДГпр и АлДГ, АлДГ и АДГобр, каталазы и ЛДГобр, каталазы и АлДГ, Гл-6-фДГ и ЛДГпр, СДГ и цитохром c оксидазы, ОАА и СОД, ОАА и ГР, концентрациями нитритов и нитратов и отрицательная корреляция между МДА и ОАА в митохондриях легких на 1 сутки после травмы. В митохондриях легких крыс на 7 сутки после КТТ отмечена отрицательная

корреляция между МДА и ОАА, МДА и активностью каталазы, МДА и СДГ, МДА и активностью цитохром с оксидазы, а также положительная корреляция между активностью АлДГ и АДГобр, каталазы и АлДГ, Гл-6-фДГ и ЛДГпр, ОАА и СОД, ОАА и активностью каталазы. Показано наличие положительной корреляции между активностью ЛДГпр и АлДГ, ЛДГпр и ЛДГобр, каталазы и АлДГ, каталазы и ГР, СДГ и цитохром с оксидазы, ОАА и СОД, ОАА и Гл-6-фДГ, концентрацией нитритов и нитратов, и отрицательной корреляции между показателем S и ОАА, МДА и активностью каталазы, МДА и СДГ, МДА и активностью цитохром с оксидазы в митохондриях легких крыс на 10 сутки после КТТ (табл. 114).

Таблица 114

Взаимосвязь биохимических показателей крови и органов при комбинированной термической травме

Сутки КТТ	Ткань, орган, субклеточная фракция		Взаимосвязанные биохимические показатели	r	p		
1	кровь	плазма	S и ЛДГобр	-0,523	0,026		
			МДА и лактат	0,764	0,035		
			глюкоза и лактат	0,831	0,018		
			нитриты и нитраты	0,902	0,005		
			МДА и S	0,764	0,035		
			S и нитраты	0,914	0,010		
			S и ОАА	-0,695	0,027		
		эритроциты	МДА и глюкоза	0,761	0,029		
			ЛДГпр и лактат	-0,752	0,013		
			ЛДГпр и АлДГ	0,995	<0,001		
			S и каталаза	-0,802	0,014		
			МДА и каталаза	-0,695	0,032		
			каталаза и СОД	0,915	0,003		
			СОД и ГР	0,836	0,017		
			ГР и Гл-6-фДГ	0,824	0,022		
			Гл-6-фДГ и глюкоза	-0,814	0,001		
			печень	гомогенат	МДА и S	0,743	0,013
					ОАА и ГР	0,815	0,005
	ОАА и СОД	0,762			0,019		
	ГР и Гл-6-фДГ	0,912			0,001		
	нитриты и нитраты	0,682			0,024		
	каталаза и АлДГ	0,805			0,011		
	каталаза и АДГобр	0,746			0,013		
	ЛДГпр и АлДГ	0,905			0,004		
	СОД и каталаза	0,897			0,006		
	S и ЛДГобр	-0,768			0,018		
	цитозоль	каталаза и ЛДГпр	0,934	0,005			
каталаза и ЛДГобр		0,925	0,025				
ГР и Гл-6-фДГ		0,827	0,021				
ЛДГобр и АДГобр		0,902	0,003				
ЛДГпр и АлДГ		0,746	0,023				

			S и СОД	-0,629	0,034	
			МДА и АлДГ	-0,684	0,038	
			МДА и АДГобр	-0,802	0,017	
			МДА и ОАА	-0,756	0,020	
		митохондрии	ГР и Гл-6-фДГ	0,829	0,012	
			цитохром с оксидаза и нитраты	0,714	0,027	
			СОД и ГР	0,756	0,024	
			каталаза и АлДГ	0,909	0,032	
			каталаза и СОД	0,692	0,038	
			Гл-6-фДГ и ЛДГпр	0,753	0,028	
			СДГ и цитохром с оксидаза	0,738	0,019	
			МДА и цитохром с оксидаза	-0,856	0,011	
			МДА и АлДГ	-0,794	0,015	
			S и СДГ	-0,813	0,013	
	почки		гомогенат	ОАА и ГР	0,975	0,005
				СОД и АлДГ	0,978	0,004
				АлДГ и АДГобр	0,950	0,013
		Гл-6-фДГ и ЛДГпр		0,887	0,025	
		ГР и Гл-6-фДГ		0,977	0,004	
		нитриты и нитраты		0,821	0,033	
		S и ОАА		-0,911	0,012	
		МДА и каталаза		-0,873	0,023	
		цитозоль	нитриты и нитраты	0,897	0,016	
			Гл-6-фДГ и ЛДГпр	0,922	0,005	
			каталаза и АлДГ	0,793	0,034	
			ГР и Гл-6-фДГ	0,856	0,027	
			S и ОАА	-0,992	<0,001	
			МДА и СОД	-0,973	<0,001	
		митохондрии	ЛДГпр и АлДГ	0,987	<0,001	
			СДГ и цитохром с оксидаза	0,999	<0,001	
			ГР и Гл-6-фДГ	0,827	0,013	
			Гл-6-фДГ и ЛДГпр	0,999	<0,001	
			СОД и АДГобр	0,980	<0,001	
			СОД и каталаза	0,919	<0,001	
			ОАА и СОД	0,726	0,019	
			S и ГР	-0,977	<0,001	
			МДА и каталаза	-0,955	0,003	
			МДА и цитохром с оксидаза	-0,979	<0,001	
		сердце	гомогенат	ЛДГпр и АлДГ	0,827	0,006
				АлДГ и АДГобр	0,758	0,021
				ОАА и каталаза	0,884	0,002
				каталаза и СОД	0,816	0,007
	СОД и ЛДГобр			0,792	0,016	
	СОД и ГР			0,723	0,027	
	ГР и Гл-6-фДГ			0,765	0,029	
	S и СОД			-0,923	0,002	
	S и ГР			-0,851	0,010	
	цитозоль		ЛДГобр и АлДГ	0,880	0,005	
			АлДГ и АДГобр	0,955	0,001	
			ОАА и каталаза	0,918	0,003	
			ОАА и СОД	0,863	0,007	
			каталаза и ГР	0,795	0,018	
			каталаза и ЛДГобр	0,946	0,002	
			каталаза и АлДГ	0,693	0,038	
			ГР и Гл-6-фДГ	0,938	0,004	

		митохондрии	МДА и каталаза	-0,954	0,002	
			МДА и СОД	-0,867	0,007	
			S и ОАА	-0,960	0,001	
			АлДГ и АДГобр	0,858	0,013	
			ОАА и каталаза	0,977	0,001	
			каталаза и СОД	0,794	0,024	
			каталаза и АДГобр	0,948	0,002	
			ОАА и СОД	0,985	<0,001	
			СОД и ЛДГобр	0,933	0,002	
			ГР и Гл-6-фДГ	0,856	0,015	
			СДГ и цитохром с оксидаза	0,938	0,003	
			МДА и каталаза	-0,947	<0,001	
			МДА и ГР	-0,826	0,011	
			легкие	гомогенат	МДА и S	0,864
	АлДГ и АДГобр	0,785			0,027	
	каталаза и ЛДГобр	0,924			0,002	
	каталаза и АлДГ	0,773			0,029	
	каталаза и СОД	0,825			0,014	
	ГР и Гл-6-фДГ	0,936			0,001	
	Гл-6-фДГ и ЛДГпр	0,952			0,003	
	S и каталаза	-0,894			0,018	
	МДА и ОАА	-0,956			0,001	
	цитозоль	ЛДГпр и АлДГ			0,758	0,030
		АлДГ и АДГобр		0,832	0,017	
		каталаза и АДГобр		0,846	0,010	
		ГР и Гл-6-фДГ		0,957	0,003	
		ОАА и СОД		0,792	0,034	
		ОАА и ГР		0,817	0,022	
		ОАА и каталаза		0,936	0,004	
		ОАА и S		-0,774	0,031	
	митохондрии	ЛДГпр и АлДГ		0,759	0,036	
		АлДГ и АДГобр		0,928	0,001	
		каталаза и ЛДГобр		0,834	0,011	
		каталаза и АлДГ		0,862	0,016	
		Гл-6-фДГ и ЛДГпр		0,755	0,024	
		СДГ и цитохром с оксидаза		0,926	0,003	
		ОАА и СОД		0,753	0,027	
		ОАА и ГР		0,926	0,003	
		нитриты и нитраты		0,816	0,010	
		МДА и ОАА		-0,784	0,019	
7	кровь	плазма		S и МДА	0,806	0,017
				S и лактат	0,824	0,011
				S и нитраты	0,761	0,014
				глюкозы и ОАА	-0,803	0,014
		эритроциты		ЛДГпр и лактат	-0,723	0,028
				ГР и Гл-6-фДГ	0,758	0,016
				Гл-6-фДГ и глюкоза	-0,749	0,017
			каталаза и СОД	0,688	0,029	
			СОД и ГР	0,774	0,009	
			каталаза и ГР	0,817	0,012	
		печень	гомогенат	ЛДГпр и АлДГ	1,000	<0,001
				СОД и каталаза	0,994	<0,001
				ЛДГобр и АДГобр	0,902	0,014
				АлДГ и нитраты	0,928	0,023

			ЛДГ пр и Гл-6-фДГ	0,905	0,034						
			ГР и нитраты	0,897	0,012						
			S и ОАА	-0,764	0,015						
			МДА и АлДГ	-0,807	0,012						
		цитозоль			ЛДГ пр и АлДГ	0,823	0,011				
					МДА и АДГобр	-0,763	0,028				
					МДА и ОАА	-0,815	0,014				
					МДА и S	0,875	0,012				
					каталаза и СОД	0,725	0,023				
					каталаза и ГР	0,814	0,014				
					каталаза и ЛДГ пр	0,936	0,001				
					Гл-6-фДГ и ЛДГ пр	0,718	0,024				
					ГР и нитраты	0,861	0,015				
					нитриты и нитраты	0,796	0,013				
		митохондрии			каталаза и АлДГ	1,000	<0,001				
					каталаза и СОД	0,758	0,017				
					Гл-6-фДГ и ЛДГ пр	0,715	0,007				
					СДГ и цитохром с оксидаза	0,664	0,038				
					S и МДА	1,000	<0,001				
					каталаза и ГР	0,686	0,023				
	АлДГ и нитриты				0,753	0,012					
	СДГ и МДА				-0,999	<0,001					
	S и ОАА	-0,873	0,010								
	почки	гомогенат			ГР и Гл-6-фДГ	0,915	0,011				
					нитриты и нитраты	0,893	0,017				
					каталаза и ЛДГобр	0,942	0,017				
					каталаза и СОД	0,784	0,029				
					СОД и ГР	0,816	0,024				
					каталаза и АлДГ	0,975	0,005				
					МДА и ГР	-0,937	0,019				
					МДА и ОАА	-0,856	0,021				
					цитозоль				каталаза и АлДГ	0,926	0,008
									ГР и Гл-6-фДГ	1,000	<0,001
МДА и СОД									-0,996	<0,001	
S и МДА									0,857	0,029	
СОД и ЛДГобр									0,999	0,001	
ОАА и ГР									0,999	<0,001	
митохондрии					СДГ и цитохром с оксидаза	0,885	0,004				
					ЛДГ пр и АлДГ	0,986	<0,001				
					каталаза и АлДГ	1,000	<0,001				
					СОД и АДГобр	0,991	<0,001				
					каталаза и ГР	0,842	0,015				
					СОД и ГР	0,976	<0,001				
					ГР и Гл-6-фДГ	0,943	0,002				
					ОАА и ГР	0,979	0,001				
					МДА и ОАА	-0,849	0,012				
					S и ОАА	-0,891	0,017				
					МДА и каталаза	-0,807	0,005				
					МДА и СДГ	-0,923	0,009				
					МДА и цитохром с оксидаза	-0,847	0,013				
сердце		гомогенат			ЛДГ пр и АлДГ	0,798	0,016				
					ЛДГобр и АлДГ	0,772	0,015				
					ГР и Гл-6-фДГ	0,855	0,008				
					СОД и ГР	0,754	0,020				
					каталаза и СОД	0,892	0,005				

			каталаза и ГР	0,926	0,003
			СОД и ЛДГобр	0,835	0,006
			ОАА и каталаза	0,946	0,001
			МДА и каталаза	-0,876	0,004
			МДА и ГР	-0,937	0,001
			S и ОАА	-0,882	0,012
		цитозоль	ЛДГ пр и АлДГ	0,813	0,017
			каталаза и ЛДГобр	0,983	0,001
			ОАА и СОД	0,852	0,013
			ОАА и каталаза	0,936	0,002
			S и ОАА	-0,944	0,002
			МДА и каталаза	-0,959	0,001
			МДА и СОД	-0,738	0,024
			МДА и ГР	-0,964	0,001
		митохондрии	ЛДГобр и АлДГ	0,816	0,017
			СОД и ЛДГпр	0,962	<0,001
			каталаза и АлДГ	0,844	0,012
			каталаза и СОД	0,909	0,004
			ГР и Гл-6-фДГ	0,837	0,014
			ОАА и СОД	0,983	<0,001
			МДА и каталаза	-0,937	0,002
			МДА и ГР	-0,756	0,028
			S и СОД	-0,843	0,016
	легкие	гомогенат	ЛДГ пр и АлДГ	0,745	0,028
			каталаза и ЛДГобр	0,861	0,015
			каталаза и АДГобр	0,723	0,031
			СОД и ГР	0,918	0,005
			нитриты и нитраты	0,875	0,016
			МДА и S	0,926	0,003
			S и СОД	-0,758	0,036
		цитозоль	ЛДГ пр и АлДГ	0,768	0,029
			ЛДГобр и АлДГ	0,824	0,013
			каталаза и АДГ пр	0,891	0,010
			ГР и Гл-6-фДГ	0,937	0,001
			Гл-6-фДГ и ЛДГ пр	0,855	0,014
			ОАА и СОД	0,726	0,028
			МДА и ОАА	-0,837	0,013
			S и каталаза	-0,924	0,003
		митохондрии	МДА и ОАА	-0,783	0,025
			МДА и каталаза	-0,792	0,020
			МДА и СДГ	-0,875	0,011
			МДА и цитохром с оксидаза	-0,934	<0,001
			АлДГ и АДГобр	0,992	<0,001
			каталаза и АлДГ	0,873	0,010
			Гл-6-фДГ и ЛДГ пр	0,745	0,026
			ОАА и СОД	0,849	0,010
			ОАА и каталаза	0,756	0,018
10	кровь	плазма	глюкозы и ОАА	-0,811	0,009
			S и нитриты	0,819	0,005
			МДА и нитраты	0,694	0,026
			нитриты и нитраты	0,753	0,016
		эритроциты	ГР и Гл-6-фДГ	0,812	0,010
			МДА и S	0,782	0,012
			каталаза и СОД	0,648	0,037
			СОД и ГР	0,695	0,028

	печень		каталаза и ГР	0,747	0,018	
			ЛДГ пр и ЛДГ обр	0,668	0,027	
			ЛДГ обр и АлДГ	0,734	0,021	
			ЛДГ пр и лактат	-0,815	0,008	
		гомогенат	ОАА и СОД	0,697	0,024	
			ГР и Гл-6-фДГ	0,758	0,018	
			ЛДГ пр и АлДГ	0,763	0,012	
			СОД и каталаза	0,826	0,025	
			ГР и нитраты	0,854	0,017	
			МДА и АлДГ	-0,687	0,027	
			каталаза и ГР	0,887	0,035	
			МДА и ОАА	-0,729	0,019	
			S и ЛДГ обр	-0,786	0,010	
			цитозоль	МДА и АлДГ	-0,826	0,005
				МДА и ОАА	-0,735	0,014
				ЛДГ пр и АлДГ	0,762	0,021
				ЛДГ обр и АДГ обр	0,812	0,009
		АлДГ и нитраты		0,773	0,026	
		АлДГ и нитриты		0,690	0,033	
		ГР и нитраты		0,884	0,013	
		МДА и S		0,728	0,008	
		ОАА и каталаза		0,779	0,015	
		каталаза и СОД		0,818	0,016	
		СОД и АДГ пр		0,727	0,026	
		ГР и Гл-6-фДГ		0,892	0,010	
		каталаза и ГР		0,675	0,035	
		митохондрии	СОД и ГР	0,910	0,032	
			каталаза и АлДГ	0,929	0,012	
			каталаза и СОД	0,970	0,006	
			СДГ и цитохром с оксидаза	0,929	0,010	
			МДА и АлДГ	-0,814	0,013	
			S и СДГ	-0,782	0,019	
			S и ОАА	-0,799	0,025	
			ОАА и каталаза	0,941	0,017	
			ГР и нитраты	0,892	0,010	
			ЛДГ пр и АлДГ	0,865	0,016	
		почки	гомогенат	Гл-6-фДГ и ЛДГ пр	0,925	0,013
				S и ОАА	-0,904	0,005
				МДА и каталаза	-0,799	0,027
				каталаза и СОД	0,858	0,029
				СОД и ГР	0,759	0,026
				каталаза и АлДГ	0,978	<0,001
				МДА и ОАА	-0,847	0,025
				ЛДГ обр и АлДГ	0,806	0,033
СОД и Гл-6-фДГ	0,867			0,031		
СОД и АДГ обр	0,745			0,022		
цитозоль	каталаза и АлДГ		0,984	<0,001		
	ГР и Гл-6-фДГ		0,990	<0,001		
	S и ОАА		-0,975	<0,001		
	ОАА и ГР		0,836	0,028		
	ЛДГ обр и АлДГ		0,999	<0,001		
	АлДГ и АДГ обр		0,810	0,037		
	СОД и АДГ пр		0,815	0,018		
	МДА и нитриты		-0,970	<0,001		
митохондрии	ЛДГ пр и АлДГ		0,896	0,008		

			АлДГ и АДГобр	0,766	0,025	
			СДГ и цитохром с оксидаза	0,874	0,005	
			ГР и Гл-6-фДГ	0,791	0,023	
			Гл-6-фДГ и ЛДГпр	0,816	0,015	
			каталаза и СОД	0,927	0,003	
			каталаза и АлДГ	0,753	0,026	
			СОД и АДГобр	0,890	0,014	
			ОАА и ГР	0,928	0,003	
			ОАА и СОД	0,792	0,022	
			МДА и ОАА	-0,825	0,016	
			S и ОАА	-0,769	0,024	
			МДА и СДГ	-0,815	0,018	
			МДА и цитохром с оксидаза	-0,764	0,021	
сердце	гомогенат		ЛДГпр и АлДГ	0,927	0,003	
			АлДГ и АДГобр	0,956	0,002	
			каталаза и ЛДГобр	0,843	0,009	
			каталаза и СОД	0,862	0,005	
			ОАА и каталаза	0,799	0,011	
			S и ОАА	-0,865	0,004	
			МДА и СОД	-0,918	0,003	
	цитозоль		ЛДГпр и АлДГ	0,885	0,007	
			АлДГ и АДГобр	0,753	0,016	
			каталаза и АДГобр	0,972	0,003	
			каталаза и СОД	0,984	<0,001	
			СОД и ГР	0,743	0,021	
			ГР и Гл-6-фДГ	0,918	0,004	
			каталаза и ГР	0,856	0,010	
			ОАА и каталаза	0,904	0,005	
			S и ОАА	-0,849	0,012	
			МДА и каталаза	-0,953	<0,001	
			МДА и СОД	-0,948	0,002	
			МДА и ГР	-0,862	0,007	
		митохондрии		ЛДГобр и АлДГ	0,836	0,019
			АлДГ и АДГобр	0,959	0,002	
			каталаза и АДГобр	0,847	0,016	
			каталаза и СОД	0,775	0,026	
			СДГ и цитохром с оксидаза	0,843	0,015	
			ОАА и СОД	0,938	<0,001	
			МДА и каталаза	-0,967	0,001	
			МДА и ГР	-0,829	0,013	
	легкие	гомогенат		S и СОД	-0,842	0,017
				ЛДГпр и АлДГ	0,865	0,013
				АлДГ и АДГобр	0,927	0,001
			каталаза и СОД	0,753	0,024	
			каталаза и АлДГ	0,826	0,017	
			ГР и Гл-6-фДГ	0,945	0,001	
			Гл-6-фДГ и ЛДГпр	0,838	0,011	
			нитриты и нитраты	0,919	0,004	
			МДА и S	0,874	0,015	
			МДА и ОАА	-0,902	0,006	
			S и каталаза	-0,836	0,013	
цитозоль				ЛДГпр и АлДГ	0,765	0,015
			АлДГ и АДГобр	0,832	0,013	
			каталаза и ЛДГобр	0,918	0,004	
			каталаза и АДГобр	0,865	0,012	

		ОАА и каталаза	0,937	0,002
		ОАА и СОД	0,852	0,011
		нитриты и нитраты	0,767	0,024
		МДА и ОАА	-0,936	<0,001
		МДА и каталаза	-0,842	0,011
		S и ОАА	-0,895	0,005
		S и ГР	-0,763	0,034
	митохондрии	ЛДГ пр и АлДГ	0,886	0,009
		ЛДГ пр и ЛДГ обр	0,757	0,021
		каталаза и АлДГ	0,763	0,018
		каталаза и ГР	0,835	0,012
		СДГ и цитохром с оксидаза	0,967	<0,001
		ОАА и СОД	0,854	0,017
		ОАА и Гл-6-фДГ	0,933	0,001
		нитриты и нитраты	0,817	0,020
		S и ОАА	-0,964	<0,001
		МДА и каталаза	-0,856	0,018
		МДА и СДГ	-0,827	0,014
		МДА и цитохром с оксидаза	-0,939	0,001

### Выводы по главе 3.6.

1. При КТТ на клеточном и субклеточном уровнях наблюдался биохимический дисбаланс между про- и антиоксидантной, детоксикационной системами, проявляющийся в возникновении тканевой гипоксии, ОС, НС и КС. Проведенный корреляционный анализ выявил различия во взаимосвязях между параметрами окислительного статуса, системы биотрансформации, углеводного и энергетического обмена у крыс с КТТ.

2. На основании математического ожидания по уровню «прочности» связи между биохимическими показателями, активностью оксидоредуктаз определена вероятность их участия в формировании гипоксии, биорадикального стресса и эндогенной интоксикации в динамике ОБ.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом в работе исследованы особенности функционирования ферментных систем антирадикальной защиты и немикросомального окисления системы биотрансформации, изучены проблемы биоэнергетики в норме и при КТТ. Развитию ОБ при КТТ сопутствуют сосудисто-тканевые изменения и нарушения гемодинамики и микроциркуляции, синдром системного воспалительного ответа и нейрорефлекторные синдромы на фоне повышения СРО в органах и тканях, развития тканевой гипоксии и ЭИ. Повышение уровня токсичных биологически активных компонентов, в частности, альдегидов и кетонов может быть следствием снижения активности таких ферментов биотрансформации как АДГ и АлДГ. Накопление высокотоксичных карбонильных соединений приводит к развитию КС. Выделение и частичная очистка АлДГ позволила выявить особенности регуляции фермента при КТТ.

Образование АФК, носящее вначале защитный характер, при отсутствии адекватного роста активности АОС и избытке свободных радикалов, приводит к нарушению прооксидантно-оксидантного баланса. При КТТ отмечено снижение активности СОД, каталазы, ГР, Гл-6-фДГ, следствием чего является снижение активности АО, их избыточное расходование и потеря антиоксидантных ферментов. Это приводит к блокаде ОАА. При КТТ активизируется образование не только свободных радикалов кислорода, но и NO, с которым связывают формирование вторичного иммунодефицитного состояния. Снижение АОС и нарушение микроциркуляции способствуют накоплению нитритов и нитратов, приводящих к развитию НС.

ОС при КТТ формируется из-за роста АФК, АФА, продуктов ПОЛ, вызывающего повреждение клеток и тканей в результате инактивации биоантиоксидантов, утечки АО и высвобождения ионов железа и меди. Нарушение биохимических механизмов развития ОС при КТТ приводит к расстройству гемодинамики и микроциркуляции, кислородному голоданию,

активации анаэробного гликолиза, ЭИ, стимуляции образования АФК и ПОЛ, истощению АОС с последующим возникновением антиоксидантной недостаточности. ОС, развивающийся вследствие блокады АОС и интенсификации СРО при КТТ, а также НС и КС приводят к воспалительным, нейродегенеративным изменениям в тканях, нарушению структурной организации и проницаемости мембран, вызывая мембранодеструктивные процессы и инактивацию мембраносвязанных ферментов и мембранных рецепторов. ОС и КС являются причиной систематического повреждения ДНК, белков и липидов, что может приводить к клеточной смерти и лежит в основе ОБ. Кроме того, снижение интенсивности гликолиза при КТТ сопровождается ингибированием ЛДГ в прямой и обратной реакции, следствием чего является изменение соотношения субстратов ЛДГ и баланса НАД/НАДН. Это отношение (НАД/НАДН) является важной частью окислительно-восстановительного состояния клетки, имеет комплексное действие и оказывает влияние на активность ряда важнейших ферментов. Снижение соотношения НАД/НАДН приводит к развитию ацидоза. Таким образом, определение активности ЛДГ и АлДГ крови может служить дополнительными методами энзимодиагностики развития нарушений энергетического метаболизма и КС при ОБ, обуславливающими обезвреживание ксенобиотиков.

Для КТТ характерны частые ателектазы легких, острая дыхательная недостаточность, отек верхних дыхательных путей и легких, выраженная артериальная гипоксия и гиперкапния. Все это усугубляет респираторную, циркуляторную, гемическую и тканевую формы гипоксии. При КТТ также отмечена дисфункция митохондрий, выступающих источником АФК, которая проявилась в снижении активности СДГ, цитохром *c* оксидазы. Инактивация мембраносвязанных процессов, развивающаяся вследствие нарушения гликолиза, ацидоз, снижение активности ферментов дыхательной цепи митохондрий (СДГ, цитохром *c* оксидазы) приводят к нарушению окислительных процессов в клетках и тканях. Дисбаланс окислительно-

восстановительных реакций и эндокринные нарушения, возникающие в результате развития нейрорефлекторных синдромов, и мембранодеструктивные процессы вызывают повреждение органов и развитие полиорганной недостаточности, приводящей к метаболическому дистресс-синдрому, который зависит от энергетического обмена протеинов и жиров, активации гликолиза.

Следовательно, КТТ сопровождается резким возрастанием СРО, о чем свидетельствовал рост интенсивности индуцированной хемилюминесценции крови и концентрации ТБК-активных продуктов. Ускорению процессов СРО способствуют биохимические изменения, возникающие при КТТ, к которым относятся гипоксия, активация клеток воспаления и гемостаза, возрастание функции органов детоксикации, усиление липолиза, истощение систем антиоксидантной защиты, причиной чего является изменения активности ферментативных окислительных систем. Схема участия некоторых оксидоредуктаз системы биотрансформации в биохимических механизмах развития ОБ представлена на рисунке 103.

В работе исследованы молекулярные механизмы реагирования клеточных компонентов организма человека и животных на тепловое воздействие, проведено биохимическое исследование по созданию протективных средств на основе АФК и АФА на эти воздействия, изучена роль АФК, продуктов ПОЛ и свободнорадикальных продуктов в нарушениях и регулировании метаболических процессов в биосистемах.

Выполненные исследования *in vitro* и *in vivo* на консервированной крови доноров, крови интактных крыс и на модельных опытах с КТТ позволили установить неизвестный ранее факт прямого усиления действия АФК на биологические системы в норме и при ОБ. Это проявилось в оптимизации биохимических показателей жизненно-важных органов.

Оценка действия АФК на клетки и ткани организма продемонстрировала их дозозависимые свойства, при которых высокие концентрации NO (NO, образуемый аппаратом Плазон», 50 ppm и 100 ppm

газообразного NO от экспериментального генератора NO, 0,6 мкмоль/л и 3 мкмоль/л ДНКЖ) вызвали лактатацидоз, повреждение белков, снижение активности ферментов, токсемию, гиперкликемию, повреждение мембран эритроцитов, интенсификацию ПОЛ, повышение концентрации МДА, повреждение митохондрий, деэнергизацию клетки. Газообразный NO в концентрации 20 ppm, 0,3 мкмоль/л (0,1 мл) и 0,15 мкмоль/л (0,05 мл) ДНКЖ способствовали повышению антиоксидантных ресурсов, гипогликемии, увеличению детоксикационной функции крови, оказали антигипоксический эффект на регуляцию клеточных процессов (табл. 115).

Выявлен дозозависимый положительный эффект действия имеющихся мощностей аппарата генерации СК на биохимические показатели консервированной крови. Высокие концентрации СК (100% интенсивность) оказали гипогликемический и антигипоксический эффекты, обусловленные повышением активности ЛДГ, КБЭР, детоксикационной функции и антиоксидантных резервов крови (рис. 104). При низкой интенсивности (50%) СК отмечена стимуляция лишь части исследуемых биохимических показателей окислительного и энергетического метаболизма крови.

Таблица 115

## Дозозависимое действие NO на клетки и ткани

Тип NO	Доза		Эффект	
газообразный NO	NO <sub>min</sub>	«ПЛАЗОН»	высокая	<ul style="list-style-type: none"> <li>- лактатацидоз</li> <li>- повреждение белков</li> <li>- ↓ активности ферментов</li> <li>- токсемия</li> <li>- гиперкликемия</li> <li>- повреждение мембран эритроцитов</li> <li>- ↑ ПОЛ, МДА</li> <li>- повреждение митохондрий</li> <li>- деэнергизация клетки</li> </ul>
	NO <sub>max</sub>			
	50 ppm			
	100 ppm			
ДНКЖ	0,2 мл		высокая	<ul style="list-style-type: none"> <li>- гиперкликемия</li> <li>- повреждение мембран эритроцитов</li> <li>- ↑ ПОЛ, МДА</li> <li>- повреждение митохондрий</li> <li>- деэнергизация клетки</li> </ul>
	1 мл			
газообразный NO	20 ppm		низкая	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ↑ антиоксидантных ресурсов</li> <li>- гипогликемия</li> <li>- ↑ детоксикационной функции</li> <li>- антигипоксический эффект (↓ лактата)</li> <li>- регуляция клеточных процессов</li> </ul>
ДНКЖ	0,05 мл			
	0,1 мл			

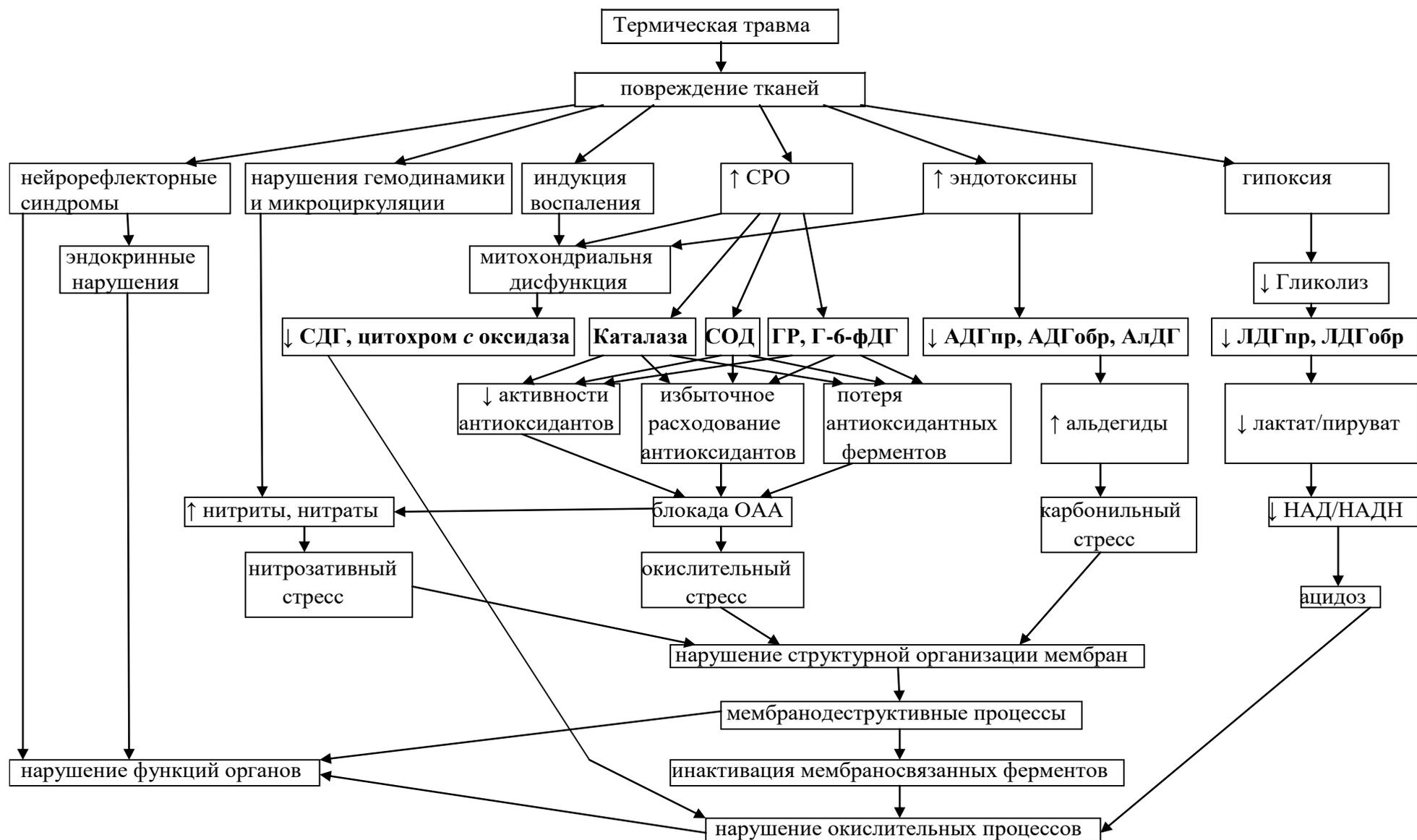


Рис. 103. Схема участия оксидоредуктаз в биохимических механизмах развития ожоговой болезни

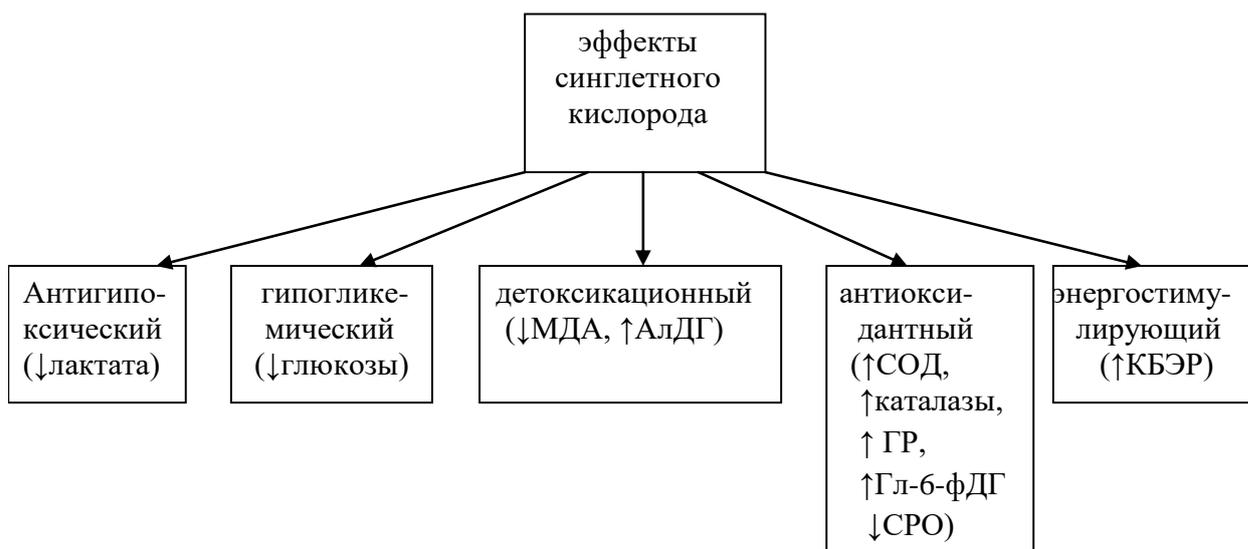


Рис. 104. Биологические эффекты синглетного кислорода

Исходя из полученных результатов, оптимальные биохимические сдвиги (состояние энергетического и окислительного метаболизма крови) наблюдались при использовании иNO в концентрации 20 ppm, ингаляций СК при мощности генератора 100% и ДНКЖ-терапии в концентрации 0,3 мкмоль/л (табл. 116) продолжительностью процедур 10 дней.

Таблица 116

#### Применение АФК и АФА (схема назначения АФК и АФА)

АФК и АФА	Концентрация / доза	Длительность применения
NO (газообразный)	20 ppm	10 дней
СК	100%	10 дней
ДНКЖ	0,3 мкмоль/л (0,1 мл)	10 дней

Механизм действия АФК при ТТ обусловлен комплексным характером биохимических нарушений при ОБ и биологическими эффектами АФК. С одной стороны, ТТ оказывает ингибирующее влияние на функционирование митохондрий, способствует снижению активности оксидаз, оксидоредуктаз, в частности, антиоксидантных ферментов и приводит к уменьшению уровня антиоксидантов в тканях. С другой стороны, экзогенные АФК, такие как СК, NO, его депонированная форма (ДНКЖ), в терапевтических концентрациях стимулируют работу митохондрий, повышают активность окислительно-восстановительных ферментов и концентрацию АО в тканях. Следствием этого является генерация АФК, в результате уровень АФК в тканях

повышается. При этом действие АФК при КТТ реализуется в устранении субстратно-энергетической недостаточности, нормализации микроциркуляции, стимуляции работы дыхательной цепи митохондрий, активации гликолиза и оксидоредуктаз (рис. 105).

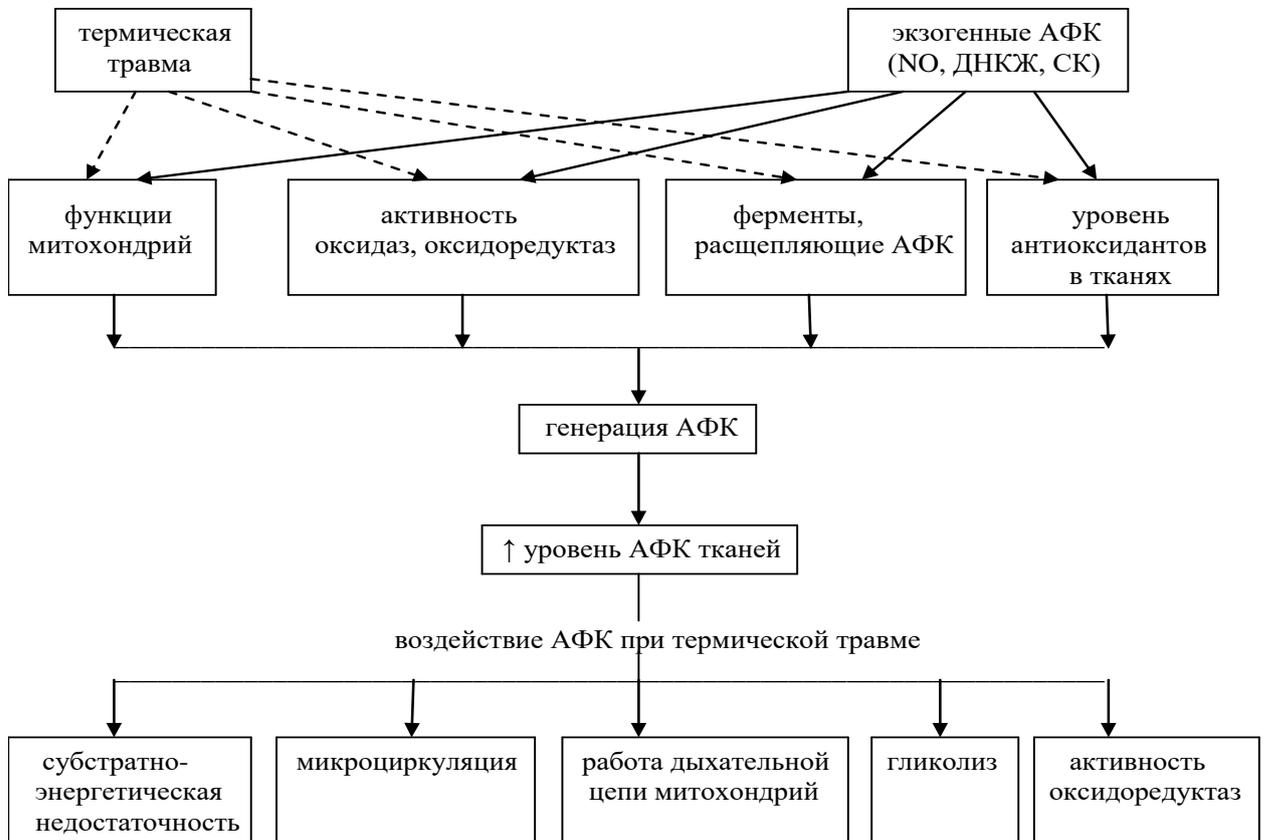


Рис. 105. Механизм действия АФК при термической травме (-----> - ингибирующее влияние, → - активирующее влияние).

Таким образом, вскрытие молекулярных механизмов интеграции клеточного метаболизма, связей биохимических процессов с деятельностью органов и тканей, с жизнедеятельностью организма в целом, при ОБ помогло в решении задач сохранения здоровья человека и животных, выяснения причин КТТ и изыскания путей ее эффективного лечения.

## ВЫВОДЫ

1. Раскрыты новые закономерности функционирования оксидоредуктаз антиоксидантной защиты и немикросомального окисления системы биотрансформации при экспериментальной КТТ на клеточном и тканевом уровнях:

– активность и характер ингибирования оксидоредуктаз, накопление продуктов метаболизма и их взаимосвязи определяют развитие нитрозативного, карбонильного и оксидативного стрессов;

– активность СОД, каталазы, ГР, Гл-6-фДГ при интенсификации СРО резко снижена ( $0,0001 < p < 0,05$ ), в зависимости от периода ОБ степень ингибирования активности оксидоредуктаз в крови и субклеточных фракциях органов убывает в последовательности: легкие – сердце – печень – почки;

– характер ингибирования активности оксидоредуктаз при КТТ, впервые установленный кинетическим методом анализа, различен: для СОД, ГР, АлДГ – двухпараметрически согласованное и каталитическое; для Гл-6-фДГ – двухпараметрически рассогласованное и каталитическое; для каталазы, ЛДГ, СДГ и цитохром *c* оксидазы – двухпараметрически согласованное и ассоциативное.

2. Субстратная специфичность АлДГ в норме и при КТТ отсутствует; активность эритроцитарной АлДГ, находящейся в трех надмолекулярных формах (матриксной, лабильно связанной и прочносвязанной с мембраной), превышает таковую в тромбоцитах в 2 раза ( $p < 0,05$ ); активатором АлДГ служат ионы  $Mg^{2+}$ ; КТТ приводит к угнетению активности АлДГ в I и II поколениях крыс с формированием приобретенной энзимопатии; снижение активности АлДГ при КТТ аналогично характеру ингибирования большинства оксидоредуктаз АОС и зависит от периода ОБ.

3. Оценка активности АлДГ и ЛДГ в эритроцитах может служить дополнительным методом энзимодиагностики состояния детоксикационных систем и энергетического метаболизма крови при КТТ.

4. Получен комплекс биохимических данных, характеризующих энергетический метаболизм и систему детоксикации при КТТ: уменьшение активности СДГ, цитохром *c* оксидазы, органоспецифическое снижение КБЭР, гипергликемия, лактатацидоз, повышение АДГ пр/АДГ обр в органах крыс, увеличение NO в крови и снижение в субклеточных фракциях органов на 1, 7, 10 сутки после КТТ. Установлена статистически значимая ( $p < 0,05$ )

взаимосвязь между оксидоредуктазами, биохимическими показателями окислительного статуса, углеводного обмена, энергетического метаболизма, необходимыми для мониторинга эффективного лечения КТТ и определена вероятность их участия в формировании гипоксии и ЭИ.

5. В условиях *in vitro* (консервированная кровь), *in vivo* (здоровые крысы) и хронического эксперимента впервые установлены оптимальные для физиологического функционирования оксидоредуктаз условия введения и концентрации АФК и АФА: 20 ppm иNO, СК в виде ингаляций при 100% мощности генератора, раствор ДНКЖ в концентрации 0,3 мкмоль/л.

6. Выявлены дозозависимые эффекты NO и NO-генерирующих ДНКЖ на биохимический профиль на системном (кровь) и клеточном (эритроциты и субклеточные фракции органов) уровнях. В эксперименте *in vitro* высокие концентрации NO, независимо от источника и формы введения, приводят к снижению активности антиоксидантных ферментов, лактатацидозу, токсемии, гипергликемии, интенсификации СРО, повреждению митохондрий, дизэнергизации клетки. Низкие концентрации АФА (20 ppm NO, 0,3 мкмоль/л и 0,15 мкмоль/л ДНКЖ) обладают антигипоксическим, антиоксидантным, гипогликемическим и детоксикационным действием.

7. В условиях хронического эксперимента низкие концентрации иNO и ДНКЖ приводят к обратимым изменениям, а избыточное воздействие – к необратимому подавлению активности оксидоредуктаз.

8. Установлены молекулярные механизмы регуляции активности ферментов немикросомального окисления и антиоксидантной защиты под влиянием АФК и АФА в норме и при КТТ: иNO и ДНКЖ модифицируют активные тиольные группы ферментов (АлДГ, ЛДГ), изменяя их каталитическую активность; при КТТ мишенями для воздействия NO являются ферменты немикросомального окисления системы биотрансформации (АлДГ, ЛДГ), для синглетного кислорода – ферменты антиоксидантной защиты (СОД, каталаза, ГР, Гл-6-фДГ).

9. Получены экспериментальные данные о роли экзогенных АФК и

АФА в регулировании метаболических процессов в крови и органах при КТТ. Воздействие NO и синглетного кислорода при КТТ *in vivo* приводит к ликвидации гипоксии, эндогенной интоксикации, оксидативного, нитрозативного и карбонильного стрессов, активации окислительно-восстановительных ферментов.

10. Впервые в клинических условиях при ТТ продемонстрирован благоприятный эффект ингаляций СК (100% интенсивности) в течение 10 дней: нормализация ОАА, концентрации лактата, уменьшение МДА плазмы (на 41,56% ( $p=0,039$ )), активация АлДГ (в 2,32 раза ( $p<0,001$ )), ЛДГ, КБЭР (на 37,28% ( $p=0,026$ )), СОД (на 71,71% ( $p=0,025$ )) и каталазы (на 39,17% ( $p=0,031$ )), при этом рост активности оксидоредуктаз обусловлен повышением их сродства к субстратам реакции и каталитической эффективности.

#### **СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Абатуров А.Е. Роль монооксида азота в неспецифической защите респираторного тракта // Здоровье ребёнка. – 2009. – № 1. – С. 16.
2. Агарков А.А. [и др.]. Активность глутатионредуктазы при патологических состояниях печени и очистка фермента с применением ионообменной хроматографии для исследования каталитических свойств // Сорбционные и хроматографические процессы.–2017.–Т. 17, № 1.–С. 168-175.
3. Активация липопероксидации как ведущий патогенетический фактор развития типовых патологических процессов и заболеваний различной этиологии: коллективная монография / под ред. В.М. Попкова, Н.П. Чесноковой, М.Ю. Ледванова. Саратов: Изд-во сарат. гос. ун-та, – 2012. 366с.
4. Алексеев А.А., Бобровников А.Э. Современные технологии местного консервативного лечения пострадавших от ожогов // Анналы хирургии. – 2012. – № 2. – С. 32-38.
5. Алексеев А.А. [и др.]. Ультразвуковая обработка ожоговых ран: методическая разработка. М.: ГОУ ДПО РМАПО Росздрава, – 2009. 16с.

6. Алексеев А.А. [и др.]. Диагностика и лечение ингаляционной травмы. Методические рекомендации. М.: Всероссийская общественная организация «Объединение комбустиологов мир без ожогов», – 2013. 24с.
7. Алексеев А.А. [и др.]. Комплексное лечение глубоких ожогов на основе применения хирургической некрэктомии и современных биотехнологических методов // *Анналы хирургии*. – 2012. – №6. – С. 41-45.
8. Аллекрад Хафиз. Регуляция свободнорадикального гомеостаза при хронической алкогольной интоксикации у крыс: автореферат дис. ... канд. биол. наук: 03.01.04 / Аллекрад Хафиз. – Воронеж, 2012. – 24с.
9. Алферова В.В. [и др.]. Хронический оксидантный стресс и особенности биотрансформации эндотоксинов у больных с очаговым нарушением неврологических функций // *Социальная и клиническая психиатрия*. – 2011. – Т. 21, № 1. – С. 25-28.
10. Аль-Рабии Мохаммед Али Мохаммед. Свободнорадикальный гомеостаз и структурно-функциональное состояние мембран эритроцитов крыс при гипотермии: автореферат дис. ... канд. биол. наук: 03.03.01; 03.01.04 / Аль-Рабии Мохаммед Али Мохаммед. – Астрахань, 2016. – 22с.
11. Андреев А.Ю. [и др.]. Метаболизм активных форм кислорода в митохондриях (обзор) // *Биохимия*. – 2005. – Т. 70, № 2. – С. 246-264.
12. Артемьев С.А. [и др.]. Содержание липидов сыворотки крови при обширных ожогах у детей разного возраста // *Бюллетень сибирской медицины*. – 2008. – № 4. – С. 93–99.
13. Артюхов В.Г., Наквасина М.А. Биологические мембраны. Воронеж: Изд-во ВГУ, – 2000. 296 с.
14. Ашмарин И.П. Алкогольдегидрогеназа млекопитающих – объект молекулярной медицины // *Успехи биологической химии*. – 2003. – Т. 43. – С. 3–18.
15. Бабак О.Я. [и др.]. Механизмы гепатопротекторного и токсического влияния азота оксида // *Сучасна гастроентерологія*. – 2006. – Т. 31, № 5. – С. 76–84.

16. Бабушкина А.В. L-аргинин с точки зрения доказательной медицины // Украинский медицинский журнал. – 2009. – Т. 74, № 6. – С. 43 – 48.
17. Баврина А.П. Свободнорадикальное окисление при различных функциональных состояниях щитовидной железы: автореферат дис. ... канд. биол. наук: 03.00.04; 03.00.13 / Баврина Анна Петровна. – Нижний Новгород, 2008. – 23с.
18. Багров И.В. Фотофизические механизмы генерации синглетного кислорода на базе фуллеренсодержащих структур и столкновительных комплексов кислорода: дис. ...канд. физико-математических наук: 01.04.05 / Багров Игорь Викторович. – СПб., 2016. – 187с.
19. Баирова Т.А. [и др.]. Перекисное окисление липидов и ген митохондриальной супероксиддисмутазы 2 у подростков с эссенциальной артериальной гипертензией // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2014. – Т. 158, № 8. – С. 141–144.
20. Байтаева Д.А., Бессмельцев С.С. Обмен порфиринов при вторичной печёночной порфирии у больных с наследственным дефицитом глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы // Казанский медицинский журнал. – 2012. – Т. 93, №3. – С. 451–456.
21. Барабой В.А. [и др.]. Перекисное окисление и стресс. М.: Наука, – 2004. 148 с.
22. Бардахчян Э.А., Харланова Н.Г. Структурно-функциональные изменения печени и мозга при эндотоксиновом шоке (ультраструктурное исследование) // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 1997. – №1. – С.17–21.
23. Бардина Л.Р. [и др.]. Влияние активаторов и ингибиторов каталазы на показатели фармакокинетики этанола и активность ферментов метаболизма этанола и ацетальдегида печени и мозга крыс // Биомедицинская химия. – 2010. – Т. 56, № 4. – С. 499–505.

24. Безручко Н.В. [и др.]. Каталаза биологических сред организма человека и ее клинико-биохимическое значение в оценке эндотоксикоза // Вестник ТГПУ. – 2012. – Т. 122, № 7. – С. 94–98.
25. Белова М.В. Окислительный стресс при наиболее распространенных острых отравлениях: дис. ...доктора биол. наук: 14.03.03 / Белова Мария Владимировна. – М., 2015. – 266с.
26. Березовская И.В. [и др.]. Химические ловушки синглетного кислорода как метод исследования механизмов фотодинамической терапии // Журнал нано- и электронной физики. – 2013. – Т. 5, № 3. – С. 1–3.
27. Берестовская В.С. [и др.]. Методы определения активности лактатдегидрогеназы // TERRA MEDICA nova. – 2008. – Т. 17, № 1. – С. 1–5.
28. Билалов И.Н. Половые и видовые особенности NO-зависимых механизмов регуляции деятельности почек: дис. ...канд. биол. наук: 03.03.01 / Билалов Ильфат Нурахматович. – Казань, 2015. – 135с.
29. Блинецова Г.Н. Пероксидное окисление липидов, антиоксидантная система и оксид азота при токсическом повреждении печени: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.04 / Блинецова Галина Николаевна. – Воронеж, 2004. – 194с.
30. Бобровников А.Э. Технологии местного консервативного лечения обожженных: автореферат дис. ... доктора мед. наук: 14.01.17 / Бобровников Александр Эдуардович. – М., 2012. – 44 с.
31. Бобырев В.Н. [и др.]. Специфичность систем антиоксидантной защиты органов и тканей – основа дифференцированной фармакотерапии антиоксидантами // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2005. – Т. 57, № 1. – С. 78–86.
32. Богдановская Н.В., Маликов Н.В. Роль системы синтеза оксида азота в обеспечении адаптации организма к систематическим физическим нагрузкам // Материалы VII Всероссийской школы-конференции по физиологии мышц и мышечной деятельности «Новые подходы к изучению классических проблем». – М., 2013. – С. 65.

33. Божко Г.Х. Роль ацетальдегида в механизмах действия этанола // Успехи физиологических наук. – 1990. – Т.21, № 3. – С. 98-114.
34. Болдырев А.А. Окислительный стресс и мозг // Соросовский образовательный журнал. – 2001. – Т.7, № 4. – С. 21–28.
35. Болтовская В.В. Патоморфология раневого процесса в зоне глубокого ожога кожи в условиях применения низкоинтенсивного электромагнитного излучения: автореферат дис. ... канд. мед. наук: 14.00.15 / Болтовская Виолетта Викторовна. – Саратов, 2006. – 22 с.
36. Бородкина А.В. Молекулярные механизмы ответов эндометриальных стволовых клеток человека на окислительный стресс: автореферат дис. ... канд. биол. наук: 03.03.04 / Бородкина Александра Васильевна. – Санкт-Петербург, 2014. – 24с.
37. Бочаров С.Н. [и др.]. Система глутатиона внутренних органов при экспериментальной политравме: влияние назначения адреналина и дексаметазона // Фундаментальные исследования. – 2014. – №10. – С. 1043–1047.
38. Будкевич Л.И., Сошкина В.В., Астамирова Т.С. Роль вакуумной терапии в комплексном лечении детей с глубокими ожогами // Российский вестник детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии. – 2013. – Т. 3, № 3. – С. 27-33.
39. Булгакова Е.Б. Перекисное окисление липидов мембран и природные антиоксиданты // Успехи химии. – 2006. – № 9. – С.238–240.
40. Буравлев Е.А. Молекулярные механизмы взаимодействия оксида азота (II) и низкоинтенсивного лазерного и светодиодного излучения с митохондриями: автореферат дис. ... канд. биол. наук: 03.01.02 / Буравлев Евгений Александрович. – Москва, 2012. – 22с.
41. Буранов С.Н. [и др.]. Устройство для получения окиси азота // Патент № 2553290 С1; заявка 2014102185/05, 23.01.2014. – Оpubл. 10.06.2015, Бюл. №16.

42. Бурлакова Е.Б. Биоантиоксиданты // Российский химический журнал. – 2007. – Т. LI, № 1. – С. 3–12.
43. Буров А.А. Терапия оксидом азота в неонатологии // Неонатология: новости, мнения, обучение. – 2014. – №4. – С. 1–14.
44. Вазина И.Р. Функциональная морфология легких при термической травме: автореферат дис. ... доктора мед. наук: 14.00.15 / Вазина Ирина Ростиславовна. – Москва, 1988. – 47 с.
45. Ванин А.Ф. Оксид азота в биомедицинских исследованиях // Вестник Российской Академии медицинских наук. – 2000. – №4. – С. 3–5.
46. Ванин А.Ф. Динитрозильные комплексы железа с тиолсодержащими лигандами как основа для создания лекарств разнообразного терапевтического действия: физико-химическое и биологическое обоснование этого направления // Биофизика. – 2017. – Т.62, № 4. – С. 629–656.
47. Ванин А.Ф., Лозинский В.И., Капелько В.И. Полимерная композиция для создания стабилизированной формы динитрозильного комплекса железа и метод синтеза этой формы // Патент №2291880 С1; заявка 2005137364/04, 01.12.2005. – Оpubл. 20.01.2007, Бюл. №2.
48. Ванин А.Ф. [и др.]. Вазодилататорное действие динитрозильных комплексов железа с тиол-содержащими лигандами // Журнал ГрГМУ. – 2009. – №2. – С. 114–118.
49. Ванин А.Ф. [и др.]. Противоопухолевый эффект динитрозильных комплексов железа с глутатионом на модели солидной опухоли мышей // Биофизика. – 2017. – Т.62, № 3. – С. 591–597.
50. Ванин А.Ф. [и др.]. Противоопухолевая активность динитрозильного комплекса железа с меркаптосукцинатом на моделях солидных опухолей мышей // Биофизика. – 2019. – Т. 64, № 6. – С. 1216–1220.
51. Васильева А.Г. [и др.]. Патогенетическое обоснование путей улучшения результатов хирургического лечения ожоговых поражений у лиц пубертатного возраста // Современные проблемы науки и образования. –

2015. – № 5; URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=21586>  
(дата обращения: 07.02.2020).

52. Васильева Е.М. [и др.]. Влияние нитропруссид натрия – возможного донатора оксида азота на активность АТФаз и перекисное окисление липидов эритроцитов больных детей // Биомедицинская химия. – 2005. – Т. 51, № 5. – С. 519–521.

53. Веревкин А.Н. Регуляция свободнорадикального гомеостаза в тканях крыс при оксидативном стрессе, индуцированном развитием сахарного диабета 2 типа и ревматоидного артрита, воздействием мелатонин-корректирующих препаратов: дис. ...канд. биол. наук: 03.01.04 / Веревкин Алексей Николаевич. – Воронеж, 2016. – 221с.

54. Владимиров Ю.А. Активные формы кислорода и азота: значение для диагностики, профилактики и терапии // Биохимия. – 2004. – Т. 69, № 1. – С. 5–7.

55. Владимиров Ю.А., Проскурнина Е.В. Свободные радикалы и клеточная хемилюминесценция // Успехи биологической химии. – 2009. – Т. 49. – С. 341–388.

56. Власов А.П. [и др.]. Метаболические перестройки в печени при эндогенной интоксикации // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2017. – Т. 163, № 3. – С. 294–297.

57. Волкова О.В., Елецкий Ю.К. Основы гистологии с гистологической техникой. 2-е изд. М.: Медицина, – 1982. 304 с.

58. Волошин П.В., Бойко Т.П., Божко Г.Х. Роль ацетальдегида в действии алкоголя на центральные катехоламинергические механизмы // Журнал невропатологии и психиатрии им. С.С.Корсакова. – 1991. – Т. 91, № 10. – С. 63–65.

59. Волыхина В.Е., Шафрановская Е.В. Супероксиддисмутазы: структура и свойства // Вестник ВГМУ. – 2009. – Т. 8, № 4. – С. 1–18.

60. Воробьев А.В. [и др.]. Способ моделирования комбинированной ожоговой травмы // Патент № 2408081; заявка 2009120239/14, 27.05.2009. – Оpubл. 27.12.2010, Бюл. № 36.
61. Выренков Ю.Е. [и др.]. Применение монооксида азота в хирургической практике // Физиотерапия, бальнеология и реабилитация. – 2014. – № 1. – С. 33–40.
62. Габитова Д.М., Рыжикова В.О., Рыжикова М.А. Антиоксидантная защитная система организма // Башкирский химический журнал. – 2006. – Т. 13, № 2. – С. 94–96.
63. Ганусова Г.В. Возрастные особенности активности NADP-зависимых дегидрогеназ и содержания цитохромов P-450 и B5 в печени крыс при развитии оксидативного стресса, вызванного хлоридом кобальта // Вісник Харківського національного університету ім. В.Н.Каразіна (Серія: біологія). – 2005. – Вып. 1–2, № 709. – С. 33–38.
64. Генетика окислительного стресса. Ростов-на-Дону: Изд-во СКНЦ ВШ ЮФУ, – 2009. 156 с.
65. Генина Э.А. Методы биофотоники: Фототерапия. Саратов: Новый ветер, – 2012. 119 с.
66. Герасимова Л.И. Эффективность применения поляризованного света при лечении ожоговых ран // Лазер, медицина. – 2002. – Т. 6, № 2. – С. 43–46.
67. Геращенко И.И. Влияние плазменного потока гелия на заживление ожоговых ран при аутодермопластике (Экспериментально-клиническое исследование): автореферат дис. ... канд. мед. наук: 14.00.27 / Геращенко Игорь Иванович. – Смоленск, 1996. – 22 с.
68. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика, – 1999. 459с.
69. Глуткин А.В., Ковальчук В.И. Термический ожог кожи у детей раннего возраста (опыт эксперимента и клиники): монография. Гродно: ГрГМУ, – 2016. 180 с.
70. Глыбочко П.В. [и др.]. Активация липопероксидации как ведущий патогенетический фактор развития типовых патологических процессов и

заболеваний различной этиологии. М.: Академия естествознания, – 2012. 365 с.

71. Гоженко А.И., Андрейцова Н.И., Квасницкая О.Б. Биотрансформация экзогенных окислителей в организме человека и животных (обзор литературы) // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2009. Т. 18, № 4. – С. 8–18.

72. Голиков П.П. [и др.]. Оксид азота и перекисное окисление липидов как фактор эндогенной интоксикации при неотложных состояниях // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2000. – № 2. – С. 6–9.

73. Гольдзон М.А., Долгих В.Т. Влияние тяжелой термической травмы на сократимость и метаболизм сердца // Общая реаниматология. – 2011. – Т.7, № 1. – С.11–14.

74. Гольдзон М.А. [и др.]. Гемодинамические и метаболические нарушения у крыс при тяжелой термической травме и их коррекция // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2010. – Т. 30, № 2. – С. 67–69.

75. Гончарь Е.Н. Результаты применения L-аргинина у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой // Международный медицинский журнал. – 2015. – № 3. – С. 59–62.

76. Гостеев А.Ю. [и др.]. Гемодинамические эффекты синтетического аналога эндогенных донаторов оксида азота (II) — препарата динитрозильных комплексов железа у больных артериальной гипертонией с неосложненными гипертоническими кризами // Терапевтический архив. – 2014. – № 9. – С. 49–55.

77. Граник В.Г., Григорьев Н.Б. Оксид азота (NO). Новый путь к поиску лекарств. М.: Вузовская книга, – 2004. 360 с.

78. Гречко В.Н. Комбинированное применение комплексной озono- и фототерапии преобразованным красным светом в хирургии: Экспериментально-клиническое исследование: дис. ... доктора мед. наук: 14.00.27 / Гречко Владимир Николаевич. – Н.Новгород, 2005. – 236 с.

79. Грибань П.А., Терехов С.М. Прогнозирование и коррекция нарушений в системе микроциркуляции после оперативного лечения у тяжелообожженных // Тезисы докладов XI Тихоокеанской международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы экспериментальной, профилактической и клинической медицины». – Владивосток, 2010. – С.212.
80. Гривенникова В.Г., Виноградов А.Д. Генерация активных форм кислорода митохондриями // Успехи биологической химии. – 2013. – Т. 53. – С. 245–296.
81. Гривенникова В.Г., Виноградов А.Д. Митохондриальный комплекс I // Успехи биологической химии. – 2003. – Т. 43. – С. 19–58.
82. Григоренко А.П., Козий М.Н., Куприн С.Ю. Метаболические нарушения и их коррекция у больных с тяжелой ожоговой травмой // Вестник интенсивной терапии. – 2007. – № 4. – С. 51–53.
83. Гриневич В.В., Волкова О.В., Акмаев И.Г. Нейроиммуноэндокринные взаимодействия в системе: гипоталамус – гипофиз – кора надпочечников при воспалении // Успехи современного естествознания. – 2003. – №5. – С. 10–14.
84. Гриппи М. Патология легких. 2-е издание. М.: Издательство Бином, – 2005. 304с.
85. Гришина Г.В. Применение регуляторов синтеза оксида азота при инфузионной терапии геморрагического шока в эксперименте: дис. ... канд. биол. наук: 14.01.21 / Гришина Галина Викторовна. – Санкт–Петербург, 2014. – 136с.
86. Губкин А.А. Динитрозильные комплексы железа, S-нитрозотиолы и коэнзим Q как антиоксиданты в системах, моделирующих окислительный стресс: автореферат дис. ... канд. физико-математических наук: 03.00.02 / Губкин Андрей Александрович. – М., 2006. – 21с.
87. Губкина С.А. Оксид азота и его физиологические комплексы в системах, моделирующих карбонильный стресс и их динамику в организме:

автореферат дис. ... канд. физико-математических наук: 03.00.02 / Губкина Светлана Александровна. – М., 2009. – 23с.

88. Гудков Л.Л. [и др.] Анитиоксидантное и прооксидантное действие доноров и метаболитов оксида азота // Биофизика. – 2007. – Т. 52, №3. – С. 503–509.

89. Гудков Л.Л. Метаболиты оксида азота в процессах свободнорадикального окисления в модельных системах и ткани миокарда: автореферат дис. ... канд. физико-математических наук: 03.00.02 / Гудков Леонид Леонидович. – М., 2008. – 21с.

90. Гудков С.В. Механизмы образования активных форм кислорода под влиянием физических факторов и их генотоксическое действие: автореферат дис. ... доктора биол. наук: 03.01.02 / Гудков Сергей Владимирович. – Пущино, 2012. – 36с.

91. Гула Н.М. [и др.]. Протизапальний вплив N-стеароїлетаноламіну на експериментальну опікову травму в щурів // Український біохімічний журнал. – 2009. – Т.81, №2. – С. 107–116.

92. Гуреев А.П. [и др.]. Оптимизация методов выделения митохондрий из разных тканей мышцы // Вестник ВГУ, Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2015. – № 4. – С. 61–65.

93. Давыдов В.В., Швец В.Н. Стимуляция катаболизма эндогенных альдегидов – новое направление в повышении устойчивости организма к стрессу // Украинский биохимический журнал. – 2010. – Т.82, №4 (приложение 2). – С.72.

94. Давыдов В.В., Божков А.И., Кульчицкий О.К. Физиологическая и патофизиологическая роль эндогенных альдегидов. Saarbrucken: Palmarium Academic Publishing, – 2012. 240с.

95. Давыдов В.В., Божков А.И. Карбонильный стресс как неспецифический фактор патогенеза (обзор литературы и собственных исследований) // Журнал НАМН України. – 2014. – Т. 20, № 1. – С. 25–34.

96. Давыдова М.П. Структура опосредованной оксидом азота дилатации легочных артерий зависит от доступности NO // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2019. – Т.167, №2. – С. 200–203.
97. Даниленко А.О. Регуляция свободнорадикальных процессов и апоптоза при окислительном стрессе: автореферат дис. ... канд. биол. наук: 03.01.04 / Даниленко Алеся Олеговна. – Ростов-на-Дону, 2012. – 24с.
98. Дементьева Т.А. Активность каталазы в митохондриях различных органов свиней // Успехи современного естествознания. – 2003. – № 10. – С. 22–23.
99. Дерюгина А.В. Исследование типовых изменений электрокинетических свойств эритроцитов в норме и при альтерации функций организма: дис. ... доктора биол. наук: 03.03.01 / Дерюгина Анна Вячеславовна. – Нижний Новгород, 2012. – 252с.
100. Диденко Н.В., Соловьева А.Г., Беляева К.Л. Влияние курса ингаляций синглетным кислородом на показатели про- и антиоксидантной систем крови пациентов с ожогом 20-50% поверхности тела // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2018. – №5. – С. 92-96.
101. Джадранов Е.С. [и др.]. Структурные особенности легочной ткани некоторых видов лабораторных животных // Вестник КазНМУ. – 2016. – №3. – С. 153–156.
102. Довжикова И.В. Изменение активности цитохромоксидазы и сукцинатдегидрогеназы в плаценте при беременности, осложненной обострением герпес-вирусной инфекции // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2011. – № 39; URL: <http://cyberleninka.ru/article/n/izmenenie-aktivnosti-tsitohromoksidazy-i-suktsinatdegidrogenazy-v-platsente-pri-beremennosti-oslozhnennoy-obostreniem-gerpes> (дата обращения: 10.11.2017).
103. Доровских В.А. [и др.]. Оксид азота в химии, биологии и медицине. Учебное пособие. Благовещенск: Амурская государственная медицинская академия, – 2007. 39с.

104. Доценко О.И., Доценко В.А., Мищенко А.М. Активность супероксиддисмутазы и каталазы в эритроцитах и некоторых тканях мышц в условиях низкочастотной вибрации // Физика живого. – 2010. – Т. 18, № 1. – С. 107–113.
105. Дроботова Д.Ю. Гипотензивное и кардиопротекторное действие динитрозильных комплексов железа как физиологических доноров оксида азота: автореферат дис. ... канд. биол. наук: 03.01.02 / Дроботова Диана Юрьевна. – М., 2011. – 24с.
106. Дубина Е.Е. Некоторые особенности функционирования ферментной антиоксидантной защиты плазмы крови человека // Биохимия. – 2005. – Вып. 2. – С. 3-18.
107. Дубинина Е.Е., Пустынина А.В. Окислительная модификация протеинов, ее роль при патологических состояниях // Украинский биохимический журнал. – 2008. – Т. 80, № 6. – С. 5–18.
108. Дьякович О.А. Роль системы биотрансформации ксенобиотиков в развитии поражений печени при производственном воздействии винилхлорида // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2013. – Т. 91, № 3 (Часть 1). – С. 164–168.
109. Егорова М.В., Афанасьев С.А. Выделение митохондрий из клеток и тканей животных и человека: современные методические приемы // Сибирский медицинский журнал. – 2011. – Т. 26, № 1. – С. 22–28.
110. Емельянов В.В., Максимова Н.Е., Мочульская Н.Н. Биохимия: учебное пособие. Екатеринбург: Издательство Уральского университета, – 2016. 132с.
111. Ермолаев М.М. Морфологические изменения дыхательной системы при экспериментальных ингаляционных (термическом и химическом) повреждениях // Теория и практика судебной медицины. Труды Санкт-Петербургского научного общества судебных медиков. – 2002. – № 6. – С. 123–125.
112. Есакова Т.В., Иванов М.В. Взаимодействие комплекса лактатдегидрогеназа NAD-пируват с мембранами легкого

- саркоплазматического ретикулула // Биохимия. – 1994. – Т. 59, № 4. – С. 543–550.
113. Ефименко Н.А. [и др.]. Плазменная хирургия в военной медицине // Военно-медицинский журнал. – 2014. – Т. 335, № 6. – С. 34–38.
114. Ефименко Н.А. [и др.]. Воздушно-плазменные потоки и NO-терапия – новая технология в клинической практике военных лечебно-профилактических учреждений // Военно-медицинский журнал. – 2005. – № 5. – С. 51–54.
115. Ещенко Н.Д. Выделение митохондриальной и цитоплазматической фракций тканей для анализа активности ферментов // Методы биохимических исследований. Ленинград: Изд-во Ленинградского ун-та, – 1982. – С.29-33.
116. Ёлкина Н.М. [и др.]. Особенности системы синтеза оксида азота и процессов нитрозилирования в эритроцитах при ишемической болезни сердца // Таврический медико-биологический вестник. – 2013. – Т. 16, № 3. – С. 40–43.
117. Жарин В.А., Федорович С.В., Маркова А.Г. Полиморфизм генов биотрансформации ксенобиотиков // Военная медицина. – 2013. – Т. 28, № 3. – С. 122–124.
118. Заворотная Р.М. Синглетный кислород при лечении ряда патологических процессов: физико-химические аспекты // Украинский ревматологический журнал. – 2002. – № 1. – 35-37.
119. Загребельная И.В. Применение оксида азота в медицинской практике // Международный медицинский журнал. – 2009. – № 4. – С. 100–104.
120. Закиян С.М., Нестеров Т.Б., Матвеева Н.М. Выявление локализации глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в фибробластах полевок и мышцы, и в миоцитах крысы с помощью моноклональных антител против глюкозы-6-фосфатдегидрогеназы // Цитология. – 1993. – Вып. 35, № 2. – С. 81–85.
121. Захарченко М. В. Сохранение митохондриальной сети как основы для исследований участия митохондрий в физиологической регуляции:

автореферат дис. ... канд. биол. наук: 03.03.01 / Захарченко Марина Владимировна. – Пушино, 2012. – 29с.

122. Звягинцева Т.В., Кривошапка А.В., Желнин Е.В. Роль метаболитов оксида азота в механизмах развития экспериментального ожога // Экспериментальная и клиническая медицина. – 2011. Т. 51, № 2. – С. 5–9.

123. Зеленская Я.А. Клинико-морфологическая характеристика микроциркуляторных и иммунных нарушений в полости рта в послеожоговом периоде: автореферат дис. ... канд. мед. наук: 14.00.21; 03.00.25 / Зеленская Яна Александровна. – Новосибирск, 2009. – 23с.

124. Зенков Н.К., Ланкин В.З., Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс. М.: Наука, – 2004. 343с.

125. Зиматкин С.М., Лис Р.Е. Активность альдегиддегидрогеназы мозга крыс в онтогенезе // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1990. – Т.98, №5. – С. 27–33.

126. Зимин Ю.В., Сяткин С.П., Березов Т.Т. Надмолекулярная регуляция активности некоторых оксидоредуктаз клетки в норме и патологии // Вопросы медицинской химии. – 2001. – Т. 47, № 3. – С. 279–287.

127. Зимин Ю.В. Кинетические свойства ферментов в надмолекулярных структурах субклеточных органелл // Рук. деп. в ВИНТИ РАН. – 1993. – № 315. – 6 с.

128. Зимин Ю.В. Особенности регуляции оксидоредуктаз печени в норме и патологии: автореферат дис. ... доктора мед. наук: 03.00.04 / Зимин Юрий Викторович. – М., 1999. – 44с.

129. Зимин Ю.В., Уланова А.А., Соловьева А.Г. Алкогольдегидрогеназа. Молекулярная и надмолекулярная регуляция // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 3. – 527–530.

130. Зимин Ю. В., Соловьева А.Г. Возможный механизм действия «термотоксинов» на кинетические свойства альдегиддегидрогеназы печени при экспериментальном термическом поражении // Вестник Российской Военно-медицинской академии. – 2010. – Т. 29, № 1. – С. 43–44.

131. Зимин Ю.В., Соловьева А.Г. Топохимия мембранной формы альдегиддегидрогеназы эритроцитов крови человека // *Фундаментальные исследования*. – 2012. – № 5–2. – С. 412–414.
132. Зимин Ю.В., Соловьева А.Г., Уланова А.А. Оценка кинетических параметров ферментов в гетерогенной надмолекулярной системе // *Фундаментальные исследования*. – 2013. – №2. – С. 68-71.
133. Зиновьев Е.В., Нестеров Ю.В., Лагвилава Т.О. Экспериментальная оценка влияния реамберина и цитофлавина на течение и исходы острого периода ожоговой болезни // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. – 2013. – Т. 76, № 4. – С. 39–44.
134. Ибадуллаева Г.С. [и др.]. Структурные особенности метастатических поражений легких лабораторных крыс и мышей при развитии различных видов опухолей // *Вестник КазНМУ*. – 2016. – № 4. – С. 297–302.
135. Ивашкин В.Т., Драпкина О.М. Клиническое значение оксида азота и белков теплового шока. 2-е изд. М.: ГЭОТАР-Медиа, – 2011. 376с.
136. Измайлов Д.Ю. [и др.]. Действие антиоксидантов на образование свободных радикалов - первичных продуктов пероксидазной реакции // *Биофизика*. – 2017. – Т.62, № 4. – С. 686–694.
137. Ильина В.А. Морфология местных и общих патологических процессов у пострадавших с тяжелой термической травмой: дис. ... доктора мед. наук: 14.03.02 / Ильина Виктория Анатольевна. – Санкт-Петербург, 2014. – 293 с.
138. Инжеваткин Е.В. [и др.]. Исследование метаболических изменений печени крыс в динамике восстановительного периода после гипертермического воздействия // *Вопросы медицинской химии*. – 2000. – Т.46, № 2. – С. 135–139.
139. Искусных И.Ю., Попова Т.Н., Мушарова О.С. Интенсивность свободнорадикальных процессов и экспрессия глутатионредуктазы и глутатионпероксидазы в сердце крыс при адреналиновом миокардите // *Биомедицинская химия*. – 2012. – Т. 58, № 5. – С. 530–538.

140. Искусных И.Ю. Экспрессия глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы при оксидативном стрессе различной этиологии: автореферат дис. ... канд. биол. наук: 03.01.04 / Искусных Игорь Юрьевич. – Воронеж, 2012. – 22с.
141. Казимирко В.К. [и др.]. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная терапия. Киев: Морион, – 2004. 160 с.
142. Калаева Е.А. [и др.]. Влияние нитроглицерина на спектральные и кислородсвязывающие характеристики внутриэритроцитарного гемоглобина человека // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2016. – Т. 79, № 9. – С. 12–17.
143. Калинина Е.В., Чернов Н.Н., Новичкова М.Д. Роль глутатиона, глутатионтрансферазы и глутаредоксина в регуляции редокс-зависимых процессов // Успехи биологической химии. – 2014. – Т. 54. – С. 299–348.
144. Каминская Л.Ю. [и др.]. Влияние донатора NO нитрозотиола глутатиона на уровень окислов азота и малонового диальдегида в крови крыс // Артериальная гипертензия. – 2005. – Т. 11, №1. – С. 5–9.
145. Кантюков С.А., Кривохижина Л.В., Фархутдинов Р.Р. Состояние процессов свободно-радикального окисления при термической травме разной степени тяжести // Вестник ЮУрГУ. – 2010. – № 24. – С. 117–124.
146. Капитонов В.М., Остапченко Д.А. Окислительный стресс и его коррекция у больных с тяжелой сочетанной травмой // Общая реаниматология. – 2010. – Т. 4, № 6. – С. 70–75.
147. Каплевский К.Н. [и др.]. Генерация синглетного кислорода индотрикарбоцианиновым красителем NITCI // Вестник БГУ. – 2012. – № 2. – С. 7–11.
148. Караханов Г.И. Местная фотодинамическая терапия у больных с термическими ожогами кожи: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.17 / Караханов Гилани Иманалиевич. – М., 2011. – 91 с.
149. Карелин В.И. [и др.]. Плазмохимическая установка для NO-терапии // Медиаль. – 2013. – Т. 9, № 4. – С. 46.

150. Каримов А.И. Физиолого-биохимические особенности влияния нитратов на организм животных: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.04, 03.03.01 / Каримов Ажобир Изатуллоевич. – Душанбе, 2010. – 121с.
151. Каримова Р.Г., Билалов И.Н., Гарипов Т.В. Влияние различных факторов на продукцию оксида азота в организме крыс // Фундаментальные исследования. – 2015. – № 2. – С. 53–57.
152. Карякин Н.Н., Перетягин П.В., Соловьева А.Г., Лузан А.С. Устройство для обеспечения регенерации повреждений кожных покровов в эксперименте // Патент на полезную модель №167633; заявка 2016106224, 24.02.2016. – Оpubл. 10.01.2017. Бюл. №1.
153. Келина Н.Ю., Васильков В.Г., Безручко Н.В. Методология доказательной биохимической оценки развития эндотоксикоза // Вестник интенсивной терапии. – 2002. – № 4. – С. 13–17.
154. Кершенгольц Б.М. [и др.]. Некоторые причины уменьшения активности альдегиддегидрогеназы печени и крови крыс при хронической алкогольной интоксикации // Вопросы медицинской химии. – 1985. – Т31, №1. – С. 47–51.
155. Кершенгольц Б.М., Серкина Е.В. Некоторые методические подходы к изучению метаболизма этанола // Лабораторное дело. – 1981. – № 2. – С.126.
156. Киричук В.Ф. [и др.]. Оксид азота и электромагнитное излучение КВЧ // Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. – 2002. – №10–11. – С. 95–108.
157. Кирова Ю.И. Регуляторная роль сукцинатзависимых сигнальных систем (NIF-1 $\alpha$  и GPR91) при адаптации к гипоксии (экспериментальное исследование): дис. ... доктора биол. наук: 14.03.03 / Кирова Юлия Игоревна. – Москва, 2016. – 280с.
158. Кислова О.В., Виноградова Е.Г., Пхакадзе Г.А. Сравнительная характеристика мембранных форм альдегиддегидрогеназы // Украинский биохимический журнал. – 1995. – Т.67, № 6. – С. 38–45.

159. Козина О.В., Огородова Л.М. Образование и биологическая роль NO при аллергическом воспалении // Бюллетень сибирской медицины. – 2009. – № 3. – С. 95–105.
160. Козинец Г.П. [и др.]. Ожоговая интоксикация. Патогенез, клиника, принципы лечения. М.: МЕДпресс-информ, – 2005. 321 с.
161. Козлов И.А. [и др.]. Ингаляционный оксид азота для профилактики нарушения артериальной оксигенации при ревазуляризации миокарда с искусственным кровообращением // Общая реаниматология. – 2011. – Т. 7, № 1. – С. 31–35.
162. Колесникова Л.И., Баирова Т.А., Первушина О.А. Гены ферментов антиоксидантной системы // Вестник РАМН. – 2013. – № 12. – С. 83–88.
163. Колесникова Л.И. [и др.]. Окислительный стресс как один из механизмов снижения всасывания глюкозы в условиях иммобилизационного стресса // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2017. – Т. 164, № 8. – С. 156–159.
164. Колесникова Л.И., Даренская М.А. Свободнорадикальное окисление как индикатор процессов адаптации и дезинтеграции клеточных структур: этнические аспекты // Патогенез. – 2016. – Т.14, № 3. – С. 4–10.
165. Колосова М.В., Лакомяя Ю.А., Титова Н.М. Изучение кинетических свойств глутатион-S-трансферазы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в эритроцитах нормального эритропоэза // Вестник Красноярского государственного университета. Гуманитарные науки. – 2004. – № 7. – С. 163-166.
166. Кондрашов В.А. Значение кожного пути поступления химических веществ в организм и профилактика перкутаных отравлений / под ред. В.Р. Рембовского. Санкт-Петербург: ЭЛБИ-СПб, – 2014. 288 с.
167. Коновалова Е.В. Защитное действие карнозина, включенного в состав нанولیпосом, в условиях окислительного стресса *in vitro* и *in vivo*: дис. ... канд. биол. наук: 03.01.04 / Коновалова Евгения Викторовна. – Москва, 2013. – 166с.

168. Коноплицкая К.Л., Кузьмина Г.И., Кузьменко Л.А. Субклеточное распределение и свойства альдегиддегидрогеназы печени крыс // Украинский биохимический журнал. – 1984. – Т. 56, № 6. – С. 624–628.
169. Коноплицкая К.Л. [и др.]. Влияние циклопропилэтилсодержащих аминов и амидов на изоферментные формы альдегиддегидрогеназы печени крыс // Химико-фармацевтический журнал. – 1994. – Т.28, № 1. – С. 7–10.
170. Коносова И.Д. Влияние ингаляционного оксида азота и небиволола на клинико-гемодинамический и нейро-гуморальный статус больных с легочной гипертензией различной этиологии: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.05, 03.01.04 / Коносова Ирина Дмитриевна. – Москва, 2015. – 111с.
171. Коптев М.Н. [и др.]. Влияние хронической иммобилизации на периферические отделы лёгкого крысы // Сборник статей по материалам XXIII международной научно-практической конференции «Современная медицина: актуальные вопросы». – Новосибирск, 2013. – С. 57.
172. Коржевский Д.Э., Гиляров А.В. Основы гистологической техники. Санкт-Петербург: Издательство СпецЛит, – 2010. 95с.
173. Коржов В.И., Жадан В.Н. Влияние полиненасыщенных жирных кислот на активность глутатионзависимых ферментов в цитозоле печени и эритроцитах крови крыс в норме и при экспериментальном хроническом бронхите // Украинский биохимический журнал. – 2003. – Т. 75, № 4. – С. 115–119.
174. Корнеев А.А., Комиссарова И.А. О биологическом значении ацетальдегида как клеточного регулятора дыхательной цепи митохондрий // Успехи современной биологии. – 1994. – Т.114, № 2. – С.212–221.
175. Коробко В.М. Разработка и стандартизация нитроксидсодержащего ранозаживляющего препарата: автореферат дис. ... канд. фармацевтических наук: 14.04.02 / Коробко Валентина Михайловна. – Самара, 2016. – 23с.
176. Корчагина Р.П. Полиморфизм генов биотрансформации ксенобиотиков (CYP2C9, CYP4F2, CYP2D6, GSTM1, GSTT1) и гена VKORC1 в популяциях

коренных этносов Северной Сибири: автореферат дис. ... канд. биол. наук: 03.02.07 / Корчагина Роза Павловна. – Новосибирск, 2012. – 16с.

177. Корячкин В. А., Страшнов В. И., Чуфаров В. Н. Интенсивная терапия угрожающих состояний. Санкт-Петербург: Санкт-Петербургское медицинское издательство, – 2002. 288 с.

178. Косенкова Ю.С., Половинка М.П., Салахутдинов Н.Ф. Ингибиторы НО-синтаз химический аспект проблемы // Химия в интересах устойчивого развития . – 2010. – № 18. – С. 669–690.

179. Костина О.В., Соловьева А.Г., Зимин Ю.В. Роль некоторых биохимических показателей в особенностях метаболизма клеток при термической травме // Медицинский альманах. – 2012. – №5. – С. 178-180.

180. Костина О.В. [и др.]. Органоспецифические особенности перекисного окисления липидов в условиях экспериментального термического ожога // Фундаментальные исследования. – 2013. – №5. – С. 88–91.

181. Костюк В.А., Потапович А.И. Биорадикалы и биоантиоксиданты: Монография. Минск: БГУ, – 2004. 174с.

182. Кочетов Г.А. Практическое руководство по энзимологии. М.: Высшая школа, – 1980. 272 с.

183. Крисько Т.К., Кисляков И.М. Фотохимический метод регистрации синглетного кислорода в водной среде для изучения фотосенсибилизирующей способности твердофазных композиций // Оптический журнал. – 2009. – Т. 76, № 6. – С. 16–23.

184. Крупянко В.И. Векторный метод представления ферментативных реакций. М.: Наука, – 1990. 146 с.

185. Крупянко В.И. Коррекция уравнений расчёта констант двухпараметрических типов ингибирования и активации ферментов // Биохимия. – 2007. – Т. 72, № 4. – С. 473–485.

186. Крылов К.М., Орлова О.В., Шлык И.В. Алгоритм действий по оказанию медицинской помощи пострадавшим с ожогами на догоспитальном этапе // Скорая медицинская помощь. – 2010. – № 2. – С. 55–59.

187. Кудряшова Е.В., А.К. Гладилин, Левашов А.В. Белки в надмолекулярных ансамблях: исследование структуры методом разрешенно–временной флуоресцентной анизотропии // Успехи биологической химии. – 2002. – Т. 42. – С. 257–294.
188. Кузнецов И.С. [и др.]. Роль метформина как донора оксида азота в регуляции углеводного обмена у пациентов с сахарным диабетом 2 типа // Сахарный диабет. – 2013. – № 3. – С. 41–45.
189. Кузнецова В.Л., Соловьева А.Г. Оксид азота: свойства, биологическая роль, механизмы действия // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 4; URL: <http://science-education.ru/article/view?id = 21037> (дата обращения: 10.01.2019).
190. Кузьмина Е.И., Ермолин С.В., Учугина А.Ф. Методы хемилюминесценции в изучении нарушений свободнорадикального процесса, его регуляции при ряде заболеваний мочеполовой системы // Нижегородский медицинский журнал. – 1993. – № 1. – С. 8.
191. Куликов В.Ю. Роль окислительного стресса в регуляции метаболической активности внеклеточного матрикса соединительной ткани (обзор) // Медицина и образование в Сибири.– 2009. – №4. – С. 6.
192. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Система глутатиона I. Синтез, транспорт, глутатионтрансферазы, глутатионпероксидазы // Биомедицинская химия. – 2009. – Т. 55, № 3. – С. 255–277.
193. Кульманова М.У., Касимова Г.З., Сабирова Р.А. Оксид азота и его роль в развитии патологических состояний. Ташкент: Ташкентская медицинская академия, – 2014. 169с.
194. Кумскова Е.М. Механизмы атерогенной модификации липопротеидов низкой плотности карбонильными соединениями: автореферат дис. ... канд. биол. наук: 03.01.04 / Кумскова Елена Михайловна. – М., 2012. – 24с.
195. Куроптева З.В. [и др.]. Влияние гипоксии на образование оксида азота в тканях сердца животных // Доклады академии наук. – 2011. – Т. 441, № 3. – С. 406–409.

196. Курочкин М.Ю. [и др.]. Окислительная модификация белка у новорожденных и младенцев, оперированных в условиях многокомпонентных анестезий с центральными нейроаксиальными блокадами // Медицина неотложных состояний. – 2012. – № 2. – С. 54–56.
197. Куценко С.А. Основы токсикологии: научно-методическое издание. Санкт-Петербург: ООО "Издательство Фолиант", – 2004. 720 с.
198. Лабас Ю.А. [и др.]. Регуляторная роль активных форм кислорода: от бактерий до человека // Успехи современной биологии. – 2010. – Т. 130, № 4. – С. 323–335.
199. Лабезник Л.Б. NO в этиопатогенезе некоторых заболеваний органов пищеварения // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2005. – № 2. – С. 4–10.
200. Лазаренко В.А., Ляшев Ю.Д., Шевченко Н.И. Влияние синтетического аналога индолицидина на процессы перекисного окисления липидов при термических ожогах // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2014. – Т. 157, № 4. – С. 443–445
201. Лакомая Ю.А. Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа при старении эритроцитов: автореферат дис. ... канд. биол. наук: 03.00.04 / Лакомая Юлия Александровна. – Тюмень, 2006. – 25 с.
202. Лакомкин В.Л. [и др.]. Длительный гипотензивный эффект стабильных динитрозильных комплексов железа у бодрствующих нормотензивных и гипертензивных крыс // Кардиологический вестник. – 2006. – Т. 13, № 1. – С. 42–47.
203. Ланкин В.З., Белова Е.М., Тихазе А.К. Гипоосмотический гемолиз эритроцитов активными формами карбониллов // Биофизика. – 2017. – Т.62, № 2. – С. 325–329.
204. Ланкин В.З. [и др.]. Карбонильный стресс и модификация липопротеидов низкой плотности: патофизиологическое и диагностическое значение // Здоровье. Медицинская экология. Наука. – 2009. – № 4–5. – С. 99–102.

205. Ланкин В.З. [и др.]. Влияние глюкозы на свободнорадикальное окисление липопротеинов низкой плотности *in vitro* и *in vivo* // Биомедицинская химия. – 2012. – Т. 58, № 3. – С. 339–352.
206. Ланкин В.З. [и др.]. Глюкоза инициирует атерогенную окислительную модификацию липопротеидов низкой плотности *in vitro* и у больных сахарным диабетом типа 2 // Кардиологический вестник. – 2011. – Т. 6, №1. – С. 16–22.
207. Лапитан Д.Г. [и др.]. Медико-физические аспекты стимуляции микроциркуляции крови оксидом азота при лечении заболеваний ЛОР-органов// Медицинская физика. – 2012. – № 1. – С. 61–68.
208. Ларина С.Н. [и др.]. Роль ядерных рецепторов в регуляции биотрансформации ксенобиотиков // Биомедицина. – 2010. – № 1. – С. 5–16.
209. Ларионова К.Д. Патогенетическое обоснование местного применения лекарственных композиций с высокой транскутанной активностью в лечении ожоговых ран: дис. ... канд. мед. наук: 14.03.03, 14.01.15 / Ларионова Ксения Даниловна. – Нижний Новгород, 2014. – 158с.
210. Лебедь М.Л. Патогенетическое обоснование оптимизации адаптивных реакций при множественной скелетной травме (экспериментально-клиническое исследование): дис. ... доктора мед. наук: 14.03.03 / Лебедь Максим Леонидович. – Иркутск, 2015. – 261с.
211. Левенкова М.В. Свойства и регуляция активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в условиях оксидативного стресса при токсическом поражении печени крыс: автореферат дис. ... канд. биол. наук: 03.00.04 / Левенкова Марина Валерьевна. – Воронеж, 2006. – 21 с.
212. Леонов А.Н. Гипероксия. Адаптационно-метаболическая концепция саногенеза // Бюллетень гипербарической биологии и медицины. – 1993. – № 1–4. – С. 61–74.
213. Лидохова О.В. Исследование процессов модуляции структурно-функциональных свойств лимфоцитов человека в условиях воздействия УФ-света и активных форм кислорода: роль ионов кальция, цАМФ и NO:

- автореферат дис. ... канд. биол. наук: 03.01.02 / Лидохова Олеся Владимировна. – Воронеж, 2013. – 24с.
214. Липатов Н.И., Бирюков А.С., Гулямова Э.С. Световой котел – генератор синглетного кислорода  $O_2(a^1\Delta_g)$  // Квантовая электроника. – 2008. – Т. 38, № 12. – С. 1179–1182.
215. Липатов К.В. [и др.]. Применение газового потока, содержащего оксид азота (NO-терапия) в комплексном лечении гнойных ран // Хирургия. – 2002. – № 2. – С. 41–43.
216. Лукьянова Л.Д., Кирова Ю.И., Германова Э.Л. Особенности срочной реакции ферментов дыхательной цепи в коре головного мозга крыс на гипоксию // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2018. – Т. 166, № 10. – С. 410–416.
217. Луцкий М.А. [и др.]. Свободнорадикальное окисление липидов и белков – универсальный процесс жизнедеятельности организма // Успехи современного естествознания. – 2014. – № 12. – С. 24–28.
218. Луцк В.И. Взаимодействие лактатдегидрогеназы со структурными компонентами клетки: возможное физиологическое значение // Биохимия. – 1992. – Т. 57, № 8. – С. 1142–1154.
219. Львова О.А. [и др.]. К вопросу о роли оксида азота в норме и при патологии нервной системы // Электронный научный журнал «Системная интеграция в здравоохранении». – 2010. – Т. 10, № 4. – С. 20–35.
220. Львовская Е.И. Нарушение процессов липидной пероксидации при термической травме и патогенетическое обоснование лечения антиоксидантами из плазмы крови: дис. ... доктора мед. наук: 14.00.16, 03.00.04 / Львовская Елена Ивановна. – М., 1998. – 261 с.
221. Ляхович В.В. [и др.]. Активная защита при окислительном стрессе. Антиоксидант-респонсивный элемент // Биохимия. – 2006. – Т. 71, № 9. – С. 1183–1197.

222. Макаренко Е.В. АТФазная активность эритроцитов при хронических заболеваниях печени и желудка // Лабораторное дело. – 1987. – № 2. – С. 14–17.
223. Макоев С.Н. Лазерная фотодинамическая терапия ожоговых ран: экспериментальное исследование: дис. ... канд. мед. наук: 14.00.27 / Макоев Сослан Николаевич. – М., 2009. – 76 с.
224. Максимова М.Ю., Федорова Т.Н., Шарыпова Т.Н. Окислительный стресс и перспективы нейропротекции при хронических нарушениях мозгового кровообращения // Фарматека. – 2015. – Т. 303, № 10. – С. 63–69.
225. Максимович Н.Е., Троян Э.И. Динамика концентрации нитритов/нитратов в крови крыс с экспериментальным холестаазом // Журнал ГрГМУ. – 2006. – № 3. – С. 40–41.
226. Малкоч А.В., Майданник В.Г., Курбанова Э.Г. Физиологическая роль оксида азота в организме (Часть 1) // Нефрология и диализ. – 2000. – Т. 2, № 1–2. – С. 69–75.
227. Малахов В.А. [и др.]. Проблема оксида азота в неврологии: Монография. – Суми: Видавництво Сум ГПУ ім. А.С. Макаренка, – 2009. 242 с.
228. Малахова М.Я. Эндогенная интоксикация как отражение компенсаторной перестройки обменных процессов в организме // Эфферентная терапия. – 2000. – Т. 6, № 4. – С. 3–14.
229. Малышев И.Ю., Манухина Е.Б. Стресс-лимитирующая система оксида азота // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2000. – №10. – С. 1283–1292.
230. Мальцев Д.В. Хемилюминесценция синглетного кислорода и его димоля ( $^1\text{O}_2$ )<sub>2</sub> в реакциях пероксидов. влияние 1,4-дiazобикло [2,2,2]октана на излучательные свойства( $^1\text{O}_2$ )<sub>2</sub>: автореферат дис. ... канд. химических наук: 02.00.04 / Мальцев Дмитрий Валентинович. – Уфа, 2007. – 22с.
231. Манухина Е.Б. [и др.]. Защитные и повреждающие эффекты периодической гипоксии: роль оксида азота // Вестник РАМН. – 2007. – № 2. – С. 25–34.

232. Манухина Е.Б. [и др.]. Депо оксида азота (NO) и его адаптивная роль в сердечно-сосудистой системе // Патогенез. – 2012. – Т. 10, № 2. – С. 19–27.
233. Марков Х.М. Окись азота в физиологии и патологии почек // Вестник РАМН. – 1996. – № 7. – С. 73–78.
234. Марков Х.М. Оксид азота и сердечно-сосудистая система // Успехи физиологических наук. – 2001. – Т. 32, № 3. – С. 49–65.
235. Мартинович Г.Г., Черенкевич С.Н. Окислительно-восстановительные процессы в клетках: Монография. Минск: БГУ, – 2008. 159 с.
236. Мартусевич А.А., Соловьева А.Г., Мартусевич А.К. Влияние ингаляций синглетного кислорода на состояние про- и антиоксидантных систем крови и энергетический метаболизм // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2013. – Т. 156, №7. – С. 51-53.
237. Мартусевич А.К., Соловьева А.Г., Перетягин С.П. Влияние различных форм оксида азота на свойства альдегиддегидрогеназы эритроцитов // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2014. – № 11. – С. 60–64.
238. Мартусевич А.К., Соловьева А.Г. Модуляция каталитических свойств альдегиддегидрогеназы эритроцитов экзогенным монооксидом азота // Биорадикалы и антиоксиданты. – 2018. – Т.5, №2. – С. 33–40.
239. Мартынюк Т.В. [и др.]. Ингаляционный оксид азота: клинические эффекты и влияние на профиль провоспалительных маркеров у пациентов с идиопатической легочной гипертензией // Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии. – 2012. – Т. 4, № 8. – С. 500–508.
240. Марцевич С.Ю. Современные взгляды на терапию нитратами больных ишемической болезнью сердца // Сердце: журнал для практикующих врачей. – 2003. – Т. 8, № 2. – С. 88–90.
241. Матвеев С.Б. [и др.]. Динамика эндогенной интоксикации у пациентов с обширными ожогами // Клиническая лабораторная диагностика. – 2013. – № 2. – С. 10-12.

242. Матвеева И.М. [и др.]. Активность альдегиддегидрогеназы в эритроцитах больных алкоголизмом // Лабораторное дело. – 1991. – № 6. – С. 20–24.
243. Медведь В.И. Долгожданный донатор оксида азота // Здоровье Украины. – 2009. – № 13–14. – С. 62.
244. Меньшикова Е.Б., Зенков Н.К., Реутов В.П. Оксид азота и NO-синтазы в организме млекопитающих при различных функциональных состояниях // Биохимия. – 2000. – Т. 65, № 4. – С. 485–503.
245. Меньшикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты. М.: Фирма Слово, – 2006. 556 с.
246. Меньшикова Е.Б. [и др.]. Окислительный стресс. Патологические состояния и заболевания. Новосибирск: Сибирское университетское издательство, – 2008. 284с.
247. Метельская В.А., Гуманова Н. Г. Скрининг-метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке крови человека // Клиническая и лабораторная диагностика. – 2005. – № 6. – С. 15–18.
248. Метельская В. А., Гуманова Н. Г. Оксид азота: роль в регуляции биологических функций, методы определения в крови человека // Лабораторная медицина. – 2005. – № 7. – С. 19–24.
249. Микроскопическая техника: Руководство для врачей и лаборантов / под ред. Д.С. Саркисова, Ю.Л. Перова. М.: Медицина, – 1996. 544с.
250. Минаев Б.Ф. Электронные механизмы активации молекулярного кислорода // Успехи химии. – 2007. – Т. 76, № 11. – С. 1059–1083.
251. Миронов П.И., Лыков А.В. Диагностика и лечение сепсиса в остром периоде тяжелой термической травмы // Хирургия. – 2010. – № 1. – С. 22–24.
252. Михальчик Е.В. Показатели окислительного стресса при ожоговой травме: автореферат дис. ... доктора биол. наук: 03.00.04 / Михальчик Елена Владимировна. – М., 2006. – 38 с.
253. Моисеев К.Ю., Юхманкова А.В., Маслюков П.М. Изменение экспрессии нейрональной NO-синтазы в симпатических узлах крыс в онтогенезе //

Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2019. – Т. 168, № 7. – С. 88–90.

254. Мойбенко А.А. [и др.]. Роль оксида азота в механизмах формирования рефлекторных вазомоторных реакций // Успехи физиологических наук. – 2005. – Т. 36, № 4. – С. 3–12.

255. Мохаммед Захид Джасим. Пероксидное окисление, антиоксидантная система и оксид азота при ожоговой травме: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.04 / Мохаммед Захид Джаси. – Воронеж, 2004. – 200 с.

256. Мубаракшина Э.К. Роль пероксиредоксина в регенерационных процессах в верхних дыхательных путях при термической травме: автореферат дис. ... канд. биол. наук: 03.00.04 / Мубаракшина Эльвира Кашифовна. – Пушино, 2009. – 22с.

257. Муравлева Л.Е. [и др.]. Окислительная модификация белков: проблемы и перспективы исследования // Фундаментальные исследования. – 2010. – № 1. – С. 74–78.

258. Нагорная Н.В. [и др.]. Энергетический обмен клетки в норме и патологии. Возможности его оценки // В помощь педиатру. – 2008. – Т. 6, № 15. – С. 34–38.

259. Назаренко Г.И., Кишкун А.А. Лабораторные методы диагностики неотложных состояний. М.: Медицина, – 2002. 566 с.

260. Назаров И.П. [и др.]. Ожоги. Интенсивная терапия: учебное пособие для системы послевузовской подготовки врачей и студентов медицинских вузов. Ростов-на-Дону: Феникс; Красноярск: Издательские проекты, – 2007. 414 с.

261. Насыбуллина Э.И. Действие метаболитов оксида азота и карбонильных соединений на гемоглобин: дис. ... канд. биол. наук: 03.01.04 / Насыбуллина Эльвира Ильгизовна. – М., 2017. – 151 с.

262. Непряхина О.К. Изучение динамики митохондриального ретикулума при окислительном стрессе: автореферат дис. ... канд. биол. наук: 03.00.25 / Непряхина Ольга Константиновна. – М., 2009. – 26 с.

263. Нилов Д.К., Прохорова Е.А., Швядас В.К. Поиск ингибиторов лактатдегидрогеназы А человека с использованием компьютерного моделирования // АСТА NATURAE. – 2015. – Т. 7, № 2. – С. 62–68.
264. Новиков В.Е., Левченкова О.С., Пожилова Е.В. Роль активных форм кислорода в физиологии и патологии клетки и их фармакологическая регуляция // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2014. – Т.12, № 4. – С. 13–21.
265. Новиков В.Е., Левченкова О.С., Пожилова Е.В. Роль митохондриального АТФ-зависимого калиевого канала и его модуляторов в адаптации клетки к гипоксии // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2014. – Т. 13, № 2. – С. 48–54.
266. Новиков В.Е., Левченкова О.С. Новые направления поиска лекарственных средств с антигипоксической активностью и мишени для их действия// Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2013. – Т. 76, № 5. – С. 37–47.
267. NO-терапия: теоретические аспекты, клинический опыт и проблемы применения экзогенного оксида азота в медицине / под ред. С.В. Грачева, А.Б. Шехтера, Н.П. Козлова. М.: Изд. Дом «Русский врач», – 2001. 192с.
268. Овечкин А.С. Определение синглетного кислорода с хемосорбционной конверсией в аскариндол: дис. ... канд. химических наук: 02.00.02 / Овечкин Андрей Сергеевич. – Санкт-Петербург, 2015. – 142с.
269. Оковитый С.В. [и др.]. Антигипоксанты в современной клинической практике // Клиническая медицина. – 2012. – № 9. – С. 63–68.
270. Оксидативный стресс и воспаление: патогенетическое партнерство: Монография / под ред. О.Г. Хурцилавы, Н.Н. Плужникова, Я.А. Накатиса. Санкт-Петербург: Издательство СЗГМУ им. И. И. Мечникова, – 2012. 340 с.
271. Осипов А.Н., Борисенко Г.Г., Владимиров Ю.А. Биологическая роль нитрозильных комплексов гемопротеинов // Успехи биологической химии. – Т. 47. – 2007. – С. 259–292.

272. Осипов А.Н. Изучение реакций активных форм кислорода (супероксидных и гидроксильных радикалов, перекиси водорода, гипохлорита) и окиси азота с биологически важными соединениями: дис. ... доктора биол. наук: 03.00.02 / Осипов Анатолий Николаевич. – М., 1999. – 203с.
273. Осипова Н.А. [и др.]. Окислительный стресс при критических состояниях и его коррекция // Общая реаниматология. – 2008. – Т. 4, № 2. – С. 98–102.
274. Островский Н.В. Избранные труды по комбустиологии. Саратов: Научная книга, – 2009. 275 с.
275. Островский Н.В. [и др.]. Комплексное лечение ожоговых ран терагерцовыми волнами молекулярного спектра оксида азота // Бюллетень медицинских Интернет-конференций. – 2012. – Т. 2, № 6. – С. 426–430.
276. Охотин В.Е., Шуклин А.В. Значение нейрональной, эндотелиальной и индуцибельной изоформ NO-синтаз в гистофизиологии сердечной мышцы // Морфология. – 2006. – Т.129, № 1. – С. 7–17.
277. Павлюченко И.И. [и др.]. Целесообразность мониторинга перекисного окисления липидов для оценки эффективности терапевтических программ в условиях санатория // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 7. – С. 151–154.
278. Папа С. Роль кооперативного  $H^+/e^-$ -сопряжения (редокс-эффект Бора) в геме a/CuA и геме a/CuB при трансмембранном переносе протонов цитохром с оксидазой // Биохимия. – 2005. – Т. 70, № 2. – С. 220–230.
279. Парамонов Б.А., Порембский Я.О., Яблонский В.Г. Ожоги. Руководство для врачей. Санкт-Петербург: СпецЛит, – 2000. 467 с.
280. Парахонский А.П. Роль нейрональной NO-синтазы в патологии сердца // Современные наукоемкие технологии. – 2010. – № 9. – С. 208.
281. Патологическая физиология. Курс лекций / под ред. Г.В.Порядина. М.: ГЭОТАР-Медиа, – 2013. 592 с.

282. Перетягин С.П. [и др.]. Устройство для насыщения крови газами // Патент на полезную модель №167710; заявка 2015151571, 01.12.2015. – Оpubл. 10.01.2017. Бюл. №1.
283. Перетягин П.В. [и др.]. Устройство для экспериментального моделирования термической травмы кожи // Описание полезной модели к патенту RU 179126 U1; заявка 2017123921, 05.07.2017. – Оpubл. 26.04.2018. Бюл. №12.
284. Петренко В.М. Анатомия легких у белой крысы // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2013. – № 10. – С. 414–417.
285. Петров Л.В., Ермолаева М.М. Анализ летальности при термических ожогах пламенем // Материалы научной конференции «Проблемы практики судебной медицины». – Санкт-Петербург, 2000. – С. 106-108.
286. Петрович Ю.А., Гуткин Д.В. Свободнорадикальное окисление и его роль в патогенезе воспаления, ишемии и стресса // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2005. – № 5. – С. 85–92.
287. Петровский Ф.И. [и др.]. Цитокины и оксид азота при бронхиальной астме // Бюллетень сибирской медицины. – 2002. – № 1. – С. 70–74.
288. Пикалюк В.С. [и др.]. Структурные изменения легких крыс при ингаляции аэрозоля безникотиновой жидкости для электронных сигарет // Журнал анатомии и гистопатологии. – 2016. – Т. 5, № 2. – С. 41–45.
289. Писаренко Л.В. Применение плазменных потоков и жизнеспособных кожных аллотрансплататов в комплексном лечении ран: дис. ... доктора мед. наук: 14.00.27 / Писаренко Леонид Васильевич. – М., 2005. – 327 с.
290. Пискарев И.М. [и др.]. Исследование уровня свободнорадикальных процессов в субстратах и биологических образцах с помощью индуцированной хемилюминесценции // Биофизика. – 2015. – Т. 60, № 3. – С. 496–505.
291. Питерская Ю.А. Прогнозирование и ранняя диагностика инфекционных осложнений у детей с тяжелой термической травмой на основании изменений

- про- и антиоксидантного статуса: автореферат дис. ... канд. мед. наук: 14.00.35 / Питерская Юлиана Александровна. – М., 2009. – 29с.
292. Плакунов В.К. Основы энзимологии. М.: Логос, – 2001. 128 с.
293. Подойницына М.Г., Цепелев В.Л., Степанов А.В. Клиническая эффективность магнитоплазменной терапии ожогов кожи // Забайкальский медицинский вестник. – 2015. – №2. – С. 99–102.
294. Подольская А.А. [и др.]. Роль генов антиоксидантной системы в формировании клинических фенотипов ишемической болезни сердца // Казанский медицинский журнал. – 2013. – Т. 94, № 2. – С. 228–234.
295. Пожилова Е.В., Новиков В.Е., Левченкова О.С. Активные формы кислорода в физиологии и патологии клетки // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2015. – Т. 14, № 2. – С. 13 – 22.
296. Пожилова Е.В., Новиков В.Е. Синтаза оксида азота и эндогенный оксид азота в физиологии и патологии клетки // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2015, Т. 14, № 4. – С. 35 – 41.
297. Покровский В.М., Коротько Г.Ф. Физиология человека. М.: Медицина, – 2003. 656 с.
298. Поликарпова А.В., Перский Е.Э. Сравнительное изучение динамики перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы при ожогах различной природы // Вісник Харківського національного університету імені В.Н.Каразіна. Серія: біологія. – 2009. – Т. 878, № 10. – С. 40–47.
299. Полутова Н.В., Чеснокова Н.П., Островский Н.В. Активация свободно-радикального окисления – эфферентное звено реализации цитопатогенных эффектов ожоговой травмы // Вестник новых медицинских технологий. – 2009. – Т. 16, № 2. – С. 68–71.
300. Пономаренко Г.Н. Применение полихроматического поляризованного некогерентного излучения аппаратов «Биоптрон» в комплексном лечении больных с ранами, трофическими язвами, ожогами и пролежнями // Физиотерапевт. – 2010. – № 7. – С. 48–58.

301. Пронина Е.А. Влияние электромагнитного излучения на частотах молекулярных спектров поглощения и излучения атмосферного кислорода и оксида азота на прокариотические клетки: дис. ... доктора мед. наук: 03.02.03 / Пронина Елена Александровна. – Волгоград, 2011. – 252с.
302. Проскуряков С.Я. [и др.]. Оксид азота в механизмах патогенеза внутриклеточных инфекций // Иммунология. – 2000. – № 4. – С. 9–20.
303. Пыжик Т.Н. Пути синтеза ацетальдегида в условиях избирательного ингибирования пируватдегидрогеназы окитиамином // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2010. – № 3. – С. 87–88.
304. Пыряева А.П. Изучение механизма фотогенерации синглетного кислорода из столкновительных комплексов X-O<sub>2</sub> (X=O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>): дис. ... канд. физико-математических наук: 01.04.17 / Пыряева Александра Павловна. – Новосибирск, 2014.–134с.
305. Ракова О.А. Синтез и исследование нитрозильных серусодержащих комплексов железа: автореферат дис. ... канд. химических наук: 02.00.04 / Ракова Ольга Анатольевна. – Черноголовка, 2003. – 24с.
306. Рассказова Е.А., Садовников В.Б. Изменение антигенных свойств белков лабораторных мышей при окислительном стрессе // Биоорганическая химия. – 2009. – Т. 35, №4. – С. 519-523.
307. Рембовский В.Р., Могиленкова Л.А. Естественные процессы детоксикации химических веществ, загрязнителей среды обитания человека // Экология. – 2015. – Т. 16. – С. 216–239.
308. Ремизова М.И., Гербут К.А., Гришина Г.В. Фармакологическое воздействие на синтез оксида азота при геморрагическом шоке в эксперименте // Гематология. – 2015. – Т. 16. – С. 568–576.
309. Реутов В.П. [и др.]. Оксид азота (NO) и цикл NO в миокарде: молекулярные, биохимические и физиологические аспекты // Успехи физиологических наук. – 2007. – Т. 38, № 4. – С. 39–58.
310. Реутов В.П. Цикл оксида азота в организме млекопитающих и принцип цикличности // Биохимия. – 2002. – Т.67, № 3. – С. 353–376.

311. Реутов В.П. [и др.]. Роль оксида азота в регуляции работы миокарда цикл оксида азота и NO-синтазные системы в миокарде // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2007. – Т. 10, № 4. – С. 89–112.
312. Романов М.Д., Инчина В.И., Ерофеева М.В. Изменение активности процессов липопероксидации на фоне применения "мексиданта" при ожоговой болезни // Вестник восстановительной медицины. – 2008. – Т. 27, № 5. – С. 58–60.
313. Романова Т.А., Аврамов П.В. Структура валентной области кластерной модели активных центров цитохром-с-оксидазы // Журнал структурной химии. – 2005. – Т.46, № 2. – С. 351–354.
314. Руднева Т.Н. Синтез, исследование строения и NO-донорной активности нитрозильных комплексов железа с 2-меркаптоимидазолами: автореферат дис. ... канд. химических наук: 02.00.04 / Руднева Татьяна Николаевна. – Черноголовка, 2007. – 25с.
315. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях : учеб. пособие / под ред. Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачева. М.: Профиль – 2С, – 2010. 358 с.
316. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / под ред. А.Н. Миронова [и др.]. М.: Гриф и К, – 2012. 944с.
317. Руководство по проведению клинических исследований лекарственных средств (Иммунобиологические лекарственные препараты). Часть вторая / под ред. А.Н. Миронова [и др.]. М.: Гриф и К, – 2012. 212 с.
318. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Издание 2-е, переработанное и дополненное / под ред. Р.У. Хабриева. 2-изд. М.: Медицина, – 2005. 832с.
319. Рябов Г.А., Азизов Ю.М. Роль оксида азота как регулятора клеточных процессов при формировании полиорганной недостаточности // Анестезиология и реаниматология. – 2001. – №1. – С. 8–13.

320. Рязанцева Н.В. [и др.]. Внутриклеточные газовые посредники оксид азота, монооксид углерода и сульфид водорода участвуют в регуляции апоптоза // Цитология. – 2012. Т. 54, № 2. – С. 105–111.
321. Рязанцева Н.В. [и др.]. Моделирование окислительного стресса в лимфоцитах крови *in vitro* для изучения апоптоза опухолевых клеток линии jurkat // Казанский медицинский журнал. – 2013. – Т. 94, № 5. – С. 736–740.
322. Рязанцева Л.Т. Ферменты – антиоксиданты: структурно-функциональные свойства и роль в регулировании метаболических процессов // Вестник Воронежского государственного технического университета. – 2011. – Т. 7, № 2. – С.126–129.
323. Сазонова Т.Г., Архипенко Ю.В. Значение баланса прооксидантов и антиоксидантов – равнозначных участников метаболизма // Патологическая физиология и экспериментальная терапия – 2007. – № 3. – С. 2–16.
324. Салей А.П., Вашанов Г.А., Мещерякова М.Ю. Роль оксида азота в регуляции гемодинамических показателей и метаболических функций печени // Вестник ВГУ, Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2009. – № 2. – С. 129–135.
325. Саломатин В.В. Роль  $\alpha_1$ -кислого гликопротеина в патогенезе термических поражений и перспективы его лечебного применения: автореферат дис. ... доктора мед. наук: 03.00.04 / Саломатин Вениамин Владимирович. – Челябинск, 1993. – 299 с.
326. Самосюк И.З. [и др.]. Синглетно-кислородная терапия. Научно-практическое пособие. Киев: НМЦ «МЕДИНТЕХ», – 2004. 88 с.
327. Самосюк И.З., Чухраев Н.В., Писанко О.И. Эко-физическое обоснование применения ЭМВ ММ диапазона и синглетно-кислородной терапии // Бюллетень медицинских Интернет-конференций. – 2012. – Т. 2, № 6. – С. 384–390.
328. Самосюк И.З. [и др.]. Использование синглетно-кислородной терапии в комплексном лечении сахарного диабета. Методические рекомендации (в

сокращении). Киев-2008 // Физиотерапия, бальнеология и реабилитация. 2012.– № 2. – С. 53–56.

329. Самыкина Л.Н. [и др.]. Определение активности каталазы эритроцитов как показателя антиоксидантной защиты организма лабораторных животных при воздействии пятиоксида ванадия // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2010. – Т. 12, № 1. – С. 1497–1502.

330. Санина Н.А., Алдошин С.М. Синтез, строение и свойства моделей нитрозильных [2Fe-2S], [1Fe-2S] протеинов и перспективы применения их в биологии и медицине // Российский химический журнал. – 2004. – Т. 48, № 4. – С. 12.

331. Санина Н.А. [и др.]. Противоопухолевая активность нитрозильных комплексов железа – новых доноров монооксида азота // Российский химический журнал. – 2009. – Т. 53, №1. – С. 164-171.

332. Санина Н.А. [и др.]. Строение биядерного тетранитрозильного комплекса железа с пиримидин-2-илом « $\mu_2$ -S-типа» и влияние pH на его NO-донорную способность в водных растворах // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2009. – № 3. – С. 560–571.

333. Сахаров С.П. Причины осложнений и летальности у детей раннего возраста с термической травмой // Вестник новых медицинских технологий – 2010 – Т. XVII, № 4. – С. 85–87.

334. Свиряева И.В. Свободные радикалы кислорода и антиоксиданты в митохондриях сердца и модельных системах: автореферат дис. ... канд. физико-математических наук: 03.00.02 / Свиряева Ирина Владимировна. – М., 2008. – 23 с.

335. Северина И.С., Буссыгина О.Г., Пятакова Н.В. Активация растворимой гуанилатциклазы новыми донорами NO как основа направленного поиска новых эффективных вазодилататоров и антиагрегантов // Вестник РАМН. – 2000. – № 4. – С. 25–30.

336. Селиванов Е.А. [и др.]. Влияние динитрозильного комплекса железа с глутатионом на течение геморрагического шока при его инфузионной

терапии // Медицинский академический журнал. – 2012. – Т.12, № 2. – С. 84–89.

337. Сепиашвили Р.И., Шубич М.Г., Карпюк В.Б. Оксид азота при астме и различных формах иммунопатологии // Астма. – 2001. – Т. 2, № 2. – С. 5–14.

338. Серая И.П., Нарциссов Я.Р. Современные представления о биологической роли оксида азота» // Успехи современной биологии. – 2002. – Т.122, № 3. – С. 249–258.

339. Сергеева Е.Н. Применение монохромного некогерентного светодиодного излучения в комплексном лечении ожогов кожи у детей: дис. ... канд. мед. наук: 14.00.51, 14.00.35 / Сергеева Екатерина Николаевна. – Санкт-Петербург, 2008. – 142 с.

340. Серебренникова С.Н., Семинский И.Ж. Патофизиология воспалительного процесса: учебное пособие. Иркутск: ИГМУ, – 2014. 82 с.

341. Серженков В.А. [и др.]. Антидиабетический препарат «метформин» – донор оксида азота: ЭПР-спектроскопическая оценка эффективности действия «метформина» // Биофизика. – 2011. – Т. 56, № 6. – С. 1125–1133.

342. Сеферова Р.И., Маненкова И.Д., Аветисова Н.Л. Внутриклеточные окислительно-восстановительные процессы в тканях при гипертермии // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 1993. – № 2. – С. 25–27.

343. Сибгатуллина Г.В. [и др.]. Методы определения редокс-статуса культивируемых клеток растений: учебно-методическое пособие. Казань: Казанский (Приволжский) Федеральный университет, – 2011. 61 с.

344. Сизоненко В.А., Цепелев В.Л. Биорегулирующая терапия в комплексном лечении больных с тяжелыми ожогами // Сибирский медицинский журнал. – 2003. – Т. 36, № 1. – С. 55–58.

345. Синглетно-кислородная терапия (научно-методическое пособие) / под ред. И.З. Самосюк, Л.И. Фисенко. Киев: НМЦ «Мединтех», – 2007. 228 с.

346. Синяченко О.В., Звягина Т.В. Оксид азота в терапевтической практике. Донецк: ООО «Юго-Восток Лтд.», – 2001. 258с.

347. Сирота Т.В. Новый подход в исследовании процесса аутоокисления адреналина и использование его для измерения активности супероксиддисмутазы // Вопросы медицинской химии. – 1999. – Т. 45, № 3. – С. 109–116.
348. Сирота Т.В. Новый подход в исследовании реакции аутоокисления адреналина: возможность полярографического определения активности супероксиддисмутазы и антиоксидантных свойств различных препаратов // Биомедицинская химия. – 2012. – Т. 58, № 1. – С. 77–87.
349. Сирота Т.В., Захарченко М.В., Кондрашова М.Н. Активность цитоплазматической супероксиддисмутазы – чувствительный показатель состояния антиоксидантной системы печени и мозга крыс // Биомедицинская химия. – 2014. – Т. 60, № 1. – С. 63–71.
350. Сирота Т.В. Стандартизация и регуляция скорости супероксидгенерирующей реакции аутоокисления адреналина, используемой для определения про/антиоксидантных свойств различных материалов // Биомедицинская химия. – 2016. – Т. 62, № 6. – С. 650–655.
351. Смирин Б.В. [и др.]. Депонирование оксида азота как фактор адаптационной защиты // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2000. – Т. 86, № 4. – С. 447–454.
352. Соловьева А.Г. Активность альдегиддегидрогеназы печени и эритроцитов крыс в норме и при ожоговой токсемии: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.13, 03.00.04 / Соловьева Анна Геннадьевна. – Нижний Новгород, 2005. – 219с.
353. Соловьева А.Г., Зимин Ю.В. Активность альдегиддегидрогеназы в поколениях крыс после термической травмы // Успехи современного естествознания. – 2007. – № 8. – С. 18–21.
354. Соловьева А.Г. Активность альдегиддегидрогеназы в эритроцитах, тромбоцитах и плазме крови крыс в норме и при ожоге // Успехи современного естествознания. – №12. – 2007. – С. 177-178.

355. Соловьева А.Г. [и др.]. Механизмы протективного действия коэнзима Q<sub>10</sub> при экспериментальной термической травме // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2017. – Т. 20, №10. – С. 31–36.
356. Соловьева А.Г., Перетягин С.П., Дударь А.И. Каталитические свойства лактатдегидрогеназы в органах крыс с термической травмой при воздействии глутатион-содержащих динитрозильных комплексов железа // Вестник Томского государственного университета. Биология. – 2015. – Т. 31, №3. – С. 130–145.
357. Соловьева А.Г. Механизм взаимодействия Mg<sup>2+</sup> с альдегиддегидрогеназой эритроцитов человека // Фундаментальные исследования. – 2008. – №2. – С.57–58.
358. Соловьева А.Г. Кинетические характеристики альдегиддегидрогеназы печени крыс при ожоге с использованием в качестве субстрата различных альдегидов // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2010. – №11. – С. 36–38.
359. Соловьева А.Г. Каталитические и кинетические свойства альдегиддегидрогеназы эритроцитов в поколения крыс после термической травмы // Вестник Российской Академии медицинских наук (Приложение). – 2008. – №6. – С.412.
360. Соловьева А.Г., Зимин Ю.В. Способ диагностики детоксикационной функции печени при ожогах в эксперименте // Патент №2361214 С1; заявка 2008120092/15, 20.05.2008. – Оpubл. 10.07.2009. Бюл. №19.
361. Соловьева А.Г., Зимин Ю.В. Способ оценки степени тяжести синдрома эндогенной интоксикации у больных с термической травмой // Патент №2369871 С1; заявка 2008109588/15, 12.03.2008. – Оpubл. 10.10.2009. Бюл. №28.
362. Соловьева А.Г., Зимин Ю.В. Способ оценки динамики метаболизма крови у больных с термической травмой // Патент №2392865 С1; заявка 2009111797/14, 30.03.2009. – Оpubл. 27.06.2010. Бюл. №18.

363. Соловьева А.Г., Зимин Ю.В., Засканова А.В. Альдегиддегидрогеназа печени крыс в норме и при термической травме: частичная очистка, изучение свойств // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2011. – Т.152, №11. – С. 506-508.
364. Соловьева А.Г. Органоспецифические регуляторные свойства алкогольдегидрогеназы при экспериментальной термической травме // Успехи современного естествознания. – 2014. – №9. – С. 28-32.
365. Соловьева А.Г., Перетягин С.П., Кузьмина Е.И. Особенности липопероксидации и антиоксидантной системы крови при воздействии различных концентраций оксида азота в условиях хронического эксперимента // Биофизика. – 2016. – Т. 61, № 4. – С. 771–776.
366. Соловьева А.Г., Перетягин С.П. Оценка состояния метаболизма крови при субхроническом воздействии синглетного кислорода в эксперименте // Кубанский научный медицинский вестник. – 2016. Т.156, №1. – С. 134–138.
367. Соловьева А.Г., Зимин Ю.В. Новый способ оценки динамики метаболизма крови у больных с термической травмой // Современные технологии в медицине. – 2012. – № 2. – С. 116–117.
368. Соловьева А.Г. [и др.]. Роль оксида азота в процессах свободнорадикального окисления // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2016. – Т. 53, № 1. – С. 228–233.
369. Сомова Л.М., Плехова Н.Г. Оксид азота как медиатор воспаления // Вестник ДВО РАН. – 2006. – № 6. – С. 77–80.
370. Соодаева С.К. Роль свободнорадикального окисления в патогенезе ХОБЛ // Пульмонология и аллергология. – 2002. – № 1. – С. 24–25.
371. Сорокин А.В., Ким Е.Р., Овчинников Л.П. Протеасомная система деградации и процессинга белков // Успехи биологической химии. – 2009. – Т. 49. – С. 3–76.
372. Сосна Л.С. Роль генов детоксикации ксенобиотиков в формировании эндоэкологического статуса человека // Сборник научных статей I Республиканской научно-практической интернет-конференции с

международным участием «Специфические и неспецифические механизмы адаптации при стрессе и физической нагрузке». – Гомель: ГомГМУ, 2014. – С. 13-15.

373. Соснин Д.Ю., Зубарева Н.А. Активность каталазы и лактатдегидрогеназы желчи у пациентов с заболеваниями печени и желчевыводящих путей // Пермский медицинский журнал. – 2010. – Т. 27, № 4. – С. 88–94.

374. Сосунов А.А. Оксид азота как межклеточный посредник // Соровский образовательный журнал. – 2000. – Т. 6, № 12. – С. 27–34.

375. Спиридонова Т.Г. Полиорганная дисфункция и недостаточность у обожженных: автореферат дис. ... доктора мед. наук: 14.00.27, 14.00.15 / Спиридонова Тамара Георгиевна. – М., 2007. – 51с.

376. Старателева Ю.А. Исследование системы крови крыс при ингаляционном введении препарата пчелиного маточного молочка и прополиса в условиях моделирования отека легких: автореферат дис. ... канд. биол. наук: 03.03.01 / Старателева Юлия Андреевна. – Нижний Новгород, 2010. – 19с.

377. Стаценко Е.А. Профилактика и коррекция нарушений функционального состояния у высококвалифицированных спортсменов в условиях тренировочного процесса: дис. ... доктора мед. наук: 14.03.11 / Стаценко Евгений Александрович. – М., 2014. – 349с.

378. Степанов Ю.М., Кононов И.Н., Журбина А.И., Филиппова А.Ю. Аргинин в медицинской практике (обзор литературы) // Журнал АМН Украины. – 2004. – Т. 10, № 1. – С. 340–352.

379. Стрельцова Д.А. Изучение новой сигнальной функции оксида азота – регуляции экспрессии гена *aidV* Ada-регулона *Escherichia coli*: автореферат дис. ... канд. биол. наук: 03.01.02 / Стрельцова Дарья Александровна. – М., 2013. – 25с.

380. Стряпко Н.В. Адаптация к гипоксии и гипероксии при действии токсикантов в низких дозах: свободно-радикальное окисление и компоненты

редокс-сигнализации: автореферат дис. ... канд. мед. наук: 14.03.03 / Стряпко Надежда Владимировна. – М., 2015. – 25 с.

381. Студнева И.М., Шульженко В.С. «Оксаком» в кардиоплегическом и реперфузионном растворе улучшает восстановление функции ишемизированного сердца // Материалы VII международной научно-практической конференции «Научные исследования: от теории к практике». – Чебоксары: ЦНС «Интерактив плюс», 2016. – С. 55–57.

382. Суханова Т.А. Патохимия клетки // Успехи современной биологии. – 2004. – Т. 40. – С. 82–104.

383. Сухова Л.Л. [и др.]. Активность ферментов катаболизма эндогенных альдегидов в субклеточных фракциях печени, сердца и головного мозга крыс пубертатного возраста при стрессе // Биомедицинская химия. – 2012. – Т. 58, № 6. – С. 691–701.

384. Сыромятников М.Ю. Биоэнергетические характеристики митохондрий летательных мышц шмелей (*Bombus Terrestris* L.): дис. ... канд. биол. наук: 03.01.04 / Сыромятников Михаил Юрьевич. – Воронеж, 2014. – 144с.

385. Тарасов Ю.А., В.В. Лелевич. Эндогенный этанол и ацетальдегид, их биомедицинское значение (Обзор литературы) // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2011. – № 2. – С. 8–11.

386. Татьянаенко Л.В. [и др.]. Влияние нитрозильных комплексов железа с тиокарбамидом и его алифатическими производными на активность  $Ca^{2+}$ -АТФазы саркоплазматического ретикулума и фосфодиэстеразы циклического гуанозинмонофосфата // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2017. – Т. 163, № 1. – С. 65–68.

387. Термические и химические повреждения. Электротравма: учебное пособие для студентов, врачей интернов, клинических ординаторов, работников практического здравоохранения. Ставрополь: Изд-во СтГМУ, – 2017. 144с.

388. Тимофеева Т.Г. [и др.]. Соотношение между липопероксидацией и окислительной модификацией белка в печени в динамике тридцатисуточной гипокинезии // *Фундаментальные исследования*. – 2012. – № 2-1. – С. 143–146.
389. Тимошин А.А. [и др.]. Исследование уровня оксида азота в тканях органов крыс и его изменений в результате длительной ингаляции воздухом с повышенным содержанием NO // *Доклады Академии наук*. – 2009. – Т. 425, №5. – С. 696–700.
390. Титов В.Н., Сажина Н.Н. Определение антиокислительной активности сыворотки крови больных с патологией печени методом хемилюминесценции // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. – 2014. – Т.158, № 8. – С. 259–263.
391. Титов В.Ю. [и др.]. Может ли суммарное содержание нитрита и нитрата служить показателем интенсивности синтеза оксида азота (NO) в тканях организма? // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. – 2012. – Т. 153, № 6. – С. 816–819.
392. Титов В.Ю. [и др.]. Предполагаемый механизм избирательности физиологического действия оксида азота // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. – 2017. – Т. 163, № 6. – С. 691–695.
393. Титов В.Ю. [и др.]. Особенности метаболизма оксида азота в норме и при патологии // *Вестник РГМУ*. – 2012. – № 4. – С. 11–15.
394. Титов В.Ю. [и др.]. Изменение биохимических свойств нитрозотиола под воздействием катиона Fe<sup>3+</sup>. Предполагаемое физиологическое значение // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. – 2019. – Т. 168, № 7. – С. 49–52.
395. Тодоров И.Н. Митохондрии: окислительный стресс и мутации митохондриальной ДНК в развитии патологий, процессе старения и апоптозе // *Российский химический журнал*. – 2007. – Т. LI, № 1. – С. 93–106.
396. Толпыгина О.А. Роль глутатиона в системе антиоксидантной защиты (обзор) // *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. – 2012. – Т. 84, № 2. – С. 178–180.

397. Тоньшин А.А. Динамика и молекулярный механизм индукции апоптоза в ткани миокарда при аноксии: автореферат дис. ... канд. биол. наук: 03.00.04 / Тоньшин Антон Александрович. – М., 2006. – 18 с.
398. Топчиева Л.В. [и др.]. Роль аллельного полиморфизма гена NOS2 в развитии эссенциальной артериальной гипертензии // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2019. – Т. 168, № 7. – С. 91–95.
399. Тюнина О.И. Исследование механизмов действия монооксида углерода и УФ-света на структурно-функциональное состояние лимфоцитов и эритроцитов крови человека: дис. ... канд. биол. наук: 03.01.02 / Тюнина Ольга Ивановна. – Воронеж, 2015. – 174с.
400. Уланова А.А. Исследование кинетических параметров надмолекулярного кластера алкоголь- и лактатдегидрогеназы в печени крыс: дис. ... канд. биол. наук: 03.01.04 / Уланова Александра Александровна. – Нижний Новгород, 2013. – 202 с.
401. Улащик В.С. Активные формы кислорода, антиоксиданты и действие лечебных физических факторов // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. – 2013. – Т. 90. – № 1. – С. 60–69.
402. Урясьев О.М., Шаханов А.В. Роль полиморфизма синтаз оксида азота в формировании коморбидной патологии — бронхиальной астмы и гипертонической болезни // Казанский медицинский журнал. – 2017. – Т. 98, № 2. – С. 226–232.
403. Ушакова Т.А. Адаптивные реакции у тяжелообожженных в условиях интенсивной терапии: дис. ... доктора мед. наук : 14.00.27, 14.00.16 / Ушакова Тамара Алексеевна. – М., 2008. – 260 с.
404. Федоров А.В. [и др.]. Основы физики гибридных наноструктур. Учебное пособие. Санкт-Петербург: СПб НИУ ИТМО, – 2014. 122 с.
405. Физиология растений / под ред. И.П. Ермакова. М.: Академия, – 2005. 634с.

406. Филимонов К.А. Совершенствование местного лечения ран у больных с локальными ожогами: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.17 / Филимонов Константин Александрович. – Самара, 2013. – 118 с.
407. Филимонова М.В. [и др.]. Экспериментальное исследование противоопухолевой активности нового ингибитора синтаз оксида азота T1023 // Молекулярная медицина. – 2015. – № 1. – С. 61–64.
408. Филипенко П.С., Ивченко Г.С., Потапов Г.В. Изменение активности глутатионпероксидазы и каталазы в крови у больных острым панкреатитом // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2006. – № 4. – С. 71–73.
409. Фисталь Э.Я. [и др.]. Комбустиология. Донецк: ДонНМУ им. Горького, – 2005. 271 с.
410. Халилов Р.А., Джафарова А.М., Хизриева С.И. Влияние гипотермии на кинетические характеристики лактатдегидрогеназы мозга крыс при глобальной ишемии и реперфузии // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2017. – Т. 163, № 3. – С. 313–317.
411. Халилов Р.А. [и др.]. Термостабильность лактатдегидрогеназы мозга крыс при кратковременной умеренной гипотермии // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2019. – Т. 168, № 9. – С. 292–296.
412. Хасанова С.Р. Экспериментально-теоретическое обоснование создания и стандартизации лекарственных растительных препаратов с антиоксидантной активностью: автореферат дис. ... доктора фармацевтических наук: 14.04.02 / Хасанова Светлана Рашитовна. – Самара, 2016. – 46с.
413. Хван И.Н., Усманов Д.Н. Опыт применения воздушно-плазменных потоков при лечении гнойных ран // Лазерная медицина. – 2011. – Т. 15, № 2. – С. 47.
414. Хижнева О.А., Дерхо М.А., Середа Т.И. Особенности активности Г-6-ФДГ в организме мышей при сочетании оксидативного и вибрационного стресса // Сборник статей международной научно-практической

- конференции «Инновационные процессы в научной среде». – Уфа: Аэтерна, 2014. – С. 12–15.
415. Ходосовский М.Н. К механизму протекторного влияния L-аргинина на печень при ишемии-реперфузии // Экспериментальная и клиническая фармакол. – 2006. – Т. 69, № 3. – С. 40–42.
416. Хочачка П., Сомеро Дж. Биохимическая адаптация. Пер.с англ. М.: Мир, –1988. 568с.
417. Хрусталёв В.В., Гончар А.С. Использование активности лактатдегидрогеназы в клинической диагностике // Молодой ученый. – 2015. – № 7. – С. 40–42.
418. Цой П.К. Свободнорадикальное окисление в медицине и фармации // Казахстанский фармацевтический вестник. – 2002. – № 5. – С.38–40
419. Чазов Е.И. [и др.]. Испытание гипотензивного действия препарата оксаком, содержащего динитрозильный комплекс железа с глутатионом, на здоровых добровольцах // Кардиология. – 2011. – № 11. – С.28–37.
420. Часовских Н.Ю. Молекулярные механизмы апоптоза при окислительном стрессе: автореферат дис. ... доктора мед. наук: 14.00.16, 03.00.25 / Часовских Наталия Юрьевна. – Томск, 2009. – 46с.
421. Черняк Ю.И., Колесников С.И., Черняк Е.В. Цитохром P450: основные представления, методы исследования, значение для практической медицины: учеб.-метод. пособие. 2-е изд. Иркутск: Изд-во ИГУ, – 2014. 47 с.
422. Черняк Ю.И. Состояние процессов биотрансформации ксенобиотиков при воздействии различных классов полициклических соединений: экспериментально-клиническое исследование: автореферат дис. ... доктора биол. наук: 14.00.16 / Черняк Юрий Ильич. – Иркутск, 2005. – 47 с.
423. Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Бизенкова М.Н. Молекулярно-клеточные механизмы индукции свободнорадикального окисления в условиях патологии // Современные проблемы науки и образования. – 2006. – № 6. – С. 21–26. URL: [www.science-education.ru/19-599](http://www.science-education.ru/19-599) (дата обращения: 14.08.2015).

424. Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Бизенкова М.Н. Общая характеристика источников образования свободных радикалов и антиоксидантных систем // Успехи современного естествознания. – 2006. – № 7. – С. 37–41.
425. Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Бизенкова М.Н. Молекулярно-клеточные механизмы цитотоксического действия гипоксии. Патогенез гипоксического некробиоза // Современные наукоемкие технологии. – 2006. – № 7. – С. 31–39.
426. Чистяков В.А. [и др.]. Влияние катионного производного пластохинона – 10-(6'-пластохинонил)децилтрифенилфосфония (SkQ1) – на содержание стероидных гормонов и уровень NO у крыс // Биохимия. – 2010. – Т. 75, № 11. – С. 1571–1576.
427. Чмырев И.В., Степаненко А.А., Рисман Б.В. Применение ультразвуковой кавитации при лечении ожоговых ран, пролежней, язв и отморожений // Вестник СПбГУ. – 2011. – Сер. 11, № 4. – С. 86–92.
428. Чурносов М.И. [и др.]. Молекулярные и генетические механизмы биотрансформации ксенобиотиков // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: медицина, фармация. – 2011. – Т.15, № 16. – С. 223–228.
429. Чучалин А.Г. Система оксиданты–антиоксиданты и пути медикаментозной коррекции // Пульмонология. – 2004. – Т. 2, № 2. – С. 111–115.
430. Шанин Ю.Н., Шанин В.Ю., Зиновьев Е.В. Антиоксидантная терапия в клинической практике (теоретическое обоснование и стратегия проведения). Санкт-Петербург: ЭЛБИ-СПб., – 2003. 128 с.
431. Шаповалов С.Г. Комбустиология чрезвычайных ситуаций: учебное пособие / под ред. С.С. Алексанина, А.А. Алексеева. Санкт-Петербург: Политехника-сервис, – 2014. 164 с.
432. Шаханов А.В., Никифоров А.А., Урясьев О.М. Полиморфизм генов синтаз оксида азота (NOS1 84G/A И NOS3 786C/T) у больных бронхиальной

- астмой и гипертонической болезнью // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. – 2017. – Т. 25, № 3. – С. 378–384.
433. Шахмарданова С.А. [и др.]. Антиоксиданты: классификация, фармакотерапевтические свойства, использование в практической медицине // Журнал фундаментальной медицины и биологии. – 2016. – № 3. – С. 4–15.
434. Шевченко О.В. [и др.]. Влияние полиморфизмов гена NAT2 на метаболизм холестерина у больных артериальной гипертензией // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 7. – С. 219–223.
435. Шень Н. П. Ожоги у детей. М.: Триада-Х, – 2011. 148 с.
436. Шиманская Т.В., Добровольский Ф.В., Сагач В.Ф. Роль оксида азота в модуляции открытия митохондриальных пор при ишемии-реперфузии изолированного сердца // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2007. – Т. 9, № 3. – С. 121–126.
437. Шингаров Э.А. Клинико-лабораторная характеристика поражения почек у детей, перенесших ожоговую болезнь: дис. ... канд. мед. наук: 14.00.09 / Шингаров Элхан Аскерович. – М., 2009. – 135 с.
438. Шишмаков Д.А., Анисимов Р.Л., Векшин Н.Л. Некоторые свойства протомитохондрий // Биологические мембраны. – 2004. – Т. 21, № 5. – С.374–380.
439. Шлык И.В. Патогенез, ранняя диагностика и принципы лечения сепсиса у тяжелообожженных: дис. ... доктора мед. наук: 14.00.37, 14.00.27 / Шлык Ирина Владимировна. – Санкт-Петербург, 2009. – 252 с.
440. Шматко Н.Ю. Новые полимерные материалы на основе миметиков природных доноров монооксида азота (NO) // Успехи в химии и химической технологии. – 2015. – Т. 29, № 10. – С. 84–86.
441. Шматко Н.Ю. Катионные динитрозильные комплексы железа с тиомочевинной и ее производными – новые доноры оксида азота: дис. ... канд. химических наук: 02.00.04 / Шматко Наталья Юрьевна. – Черноголовка, 2017. – 158с.

442. Штабницкий В.А., Чучалин А.Г. Ингаляционный оксид азота: возможности улучшения оксигенации при остром респираторном дистресс-синдроме // Пульмонология. – 2015. – Т. 25, № 2. – С. 180–186.
443. Штабницкий В.А. Место ингаляционного оксида азота в лечении больных острым респираторным дистресс-синдромом: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.25 / Штабницкий Василий Андреевич. – Москва, 2014. – 108с.
444. Шугалей И.В., Лукогорская С.А., Целинский И.В. Цепной процесс перекисного окисления белков – удобная модель для изучения повреждающей способности АФК // Русский журнал СПИД/ВИЧ и родственные проблемы. – 2002. – Т. 4, № 1. – С. 77–78.
445. Шумаев К.Б. [и др.]. Образование динитрозильных комплексов железа в митохондриях сердца // Биофизика. – 2010. – Т. 55, № 3. – С. 460–466.
446. Шумаев К.Б. [и др.]. Взаимодействие супероксидных радикалов с активными дикарбонильными соединениями // Биофизика. – 2017. – Т. 62, № 2. – С. 237–242.
447. Шумаев К.Б. [и др.]. Взаимодействие связанных с альбумином динитрозильных комплексов железа и активных форм кислорода // Биофизика. – 2007. Т. 52, № 3. – С. 534–538.
448. Шумаев К.Б. Роль динитрозильных комплексов железа в защите биомолекул и клеточных структур от окислительного, нитрозативного и карбонильного стрессов: автореферат дис. ... доктора биол. наук: 03.01.04 / Шумаев Константин Борисович. – М., 2010. – 48 с.
449. Шумаев К.Б. Взаимодействие динитрозильных комплексов железа с интермедиатами окислительного стресса // Биофизика. – 2006. Т. 51, № 3. – С. 472–477.
450. Шумаев К.Б. [и др.]. Антиоксидантные и прооксидантные свойства метаболитов оксида азота // Материалы XIV международной конференции «Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии». – Ялта-Гурзуф, 2006. – С. 416–417.

451. Шупик М.А. Взаимодействие сигнальной системы оксида азота со сфингомиелиновым циклом и пероксидным окислением при проведении токсического сигнала фактора некроза опухоли альфа в условиях ишемии–реперфузии печени: автореферат дис. ... канд. биол. наук: 03.01.02 / Шупик Мария Александровна. – Москва, 2012. – 24с.
452. Щепин А.С., Пешков С.А., Пешкова Т.В. Время жизни синглетного кислорода в столкновительных комплексах O<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub> // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2016. – Т. 191, № 3. – С. 92–97.
453. Щербаков Д.Л. Влияние нейромедиаторов на перекисное окисление липидов и антиокислительную активность при иммобилизационном стресс-воздействии у крыс разного возраста: дис. ... канд. биол. наук: 03.03.01 / Щербаков Денис Леонидович. – Екатеринбург, 2015. – 168с.
454. Яськов Н.М. [и др.]. Применение плазменного потока гелия для заживления глубоких ожоговых ран // Медицинская техника. – 2010. – №2. – С. 43–46.
455. Agarwal D.P. [et al.]. Aldehyde dehydrogenase from human erythrocytes: structural relationship to the liver cytosolic isozyme // *Enzyme*. – 1989. – Vol. 42, N 1. – P. 47–52.
456. Ahadome S.D. [et al.]. Aldehyde dehydrogenase inhibition blocks mucosal fibrosis in human and mouse ocular scarring // *JCI Insight*. – 2016. – Vol. 12, N 1. – P. 87001–87015.
457. Alderton W.K., Cooper C.E., Knowles R.G. Nitric oxide synthase: structure, function and inhibition // *Biochem J*. – 2001. – Vol. 357. – P. 593–615.
458. Alfonso-Prieto M., Vidossich P., Rovira C. The reaction mechanisms of heme catalases: an atomistic view by ab initio molecular dynamics // *Arch Biochem Biophys*. – 2012. – Vol. 525, N 2. – P. 121–130.
459. Alnouti Y., Klaassen C.D. Tissue distribution, ontogeny, and regulation of aldehyde dehydrogenase (Aldh) enzymes mRNA by prototypical microsomal enzyme inducers in mice // *Toxicol Sci*. – 2008. – Vol. 101, N 1. – P. 51–64.

460. Al-Watban F.A.H. [et al.]. PL19 Low power laser therapy of non-diabetic and diabetic wounds and burns // Photodiagnosis and photodynamic therapy. – 2010. – Vol. 7, N 1. – P. S30.
461. Amuchastegui T., Amuchastegui M., Donohue T. Disulfiram--alcohol reaction mimicking an acute coronary syndrome // Conn Med. – 2014. – Vol. 78, N 2. – P. 81–84.
462. Antosova M. [et al.]. Nitric oxide – Important messenger in human body // Open Journal of Molecular and Integrative Physiology. – 2012. – Vol. 2. – P. 98–106.
463. Arif S. [et al.]. Role of aldehyde dehydrogenase in hypoxic vasodilator effects of nitrite in rats and humans // British Journal of Pharmacology. – 2015. – Vol. 172. – P. 3341–3352.
464. Arslan A., Uzun M. Does the lower nitric oxide level cause cardiovascular changes in major depressed women? // European Review for Medical and Pharmacological Sciences. – 2008. – Vol. 12. – P. 309–313.
465. Bae S. [et al.]. Alcohol Dehydrogenase 5 Is a Source of Formate for De Novo Purine Biosynthesis in HepG2 Cells // J Nutr. – 2017. – Vol. 147, N 4. – P. 499–505.
466. Baek I.J. [et al.]. Differential expression of gastroin-testinal glutathione peroxidase (GI-GPx) gene during mouse organogenesis // Anat Histol Embryol. – 2011. – Vol. 40, N 3. – P. 210–208.
467. Ballou D.P. [et al.]. Revisiting the kinetics of nitric oxide (NO) binding to soluble guanylate cyclase: the simple NO-binding model is incorrect // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2002. – Vol. 99, N 19. – P. 12097–12101.
468. Barski O.A., Tipparaju S.M., Bhatnagar A. The aldo-keto reductase superfamily and its role in drug metabolism and detoxification // Drug Metab Rev. – 2008. – Vol. 40, N 4. – P. 553–624.

469. Bassi A.M. [et al.]. Changes of CYP 1A1, GST, and ALDH3 enzymes in hepatoma cell lines undergoing enhanced lipid peroxidation // *Free Radic Biol Med.* – 2000. – Vol. 29, N 11. – P. 1186–1196.
470. Bauer G. Reactive oxygen and nitrogen species: efficient, selective, and interactive signals during intercellular induction of apoptosis // *Anticancer Res.* – 2000. – Vol. 20. – P. 4115–39.
471. Baxter H.C. [et al.]. Elimination of TSE infectivity and decontamination of surgical instruments using RF gas-plasma treatment // *Journal of General Virology.* – 2005. – Vol. 86. – P. 2393–2399.
472. Bedard K., Krause K.H. The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology // *Physiological reviews.* – 2007. – Vol. 87, N 1. – P. 245–313.
473. Belli S. [et al.]. Protective role of simvastatin on lung damage caused by burn and cotton smoke inhalation in rats // *J Surg Res.* – 2011. – Vol. 167, N 2. – P. e283–290.
474. Berkholz D.S. [et al.]. Catalytic cycle of human glutathione reductase near 1 Å resolution // *J. Mol. Biol.* – 2008. – V. 382, N 2. – P. 371–384.
475. Berridge M.V., Herst P.M., Tan A.S. Metabolic flexibility and cell hierarchy in metastatic cancer // *Mitochondrion.* – 2010. – Vol.10, N 6. – P. 584–588.
476. Bgatova N.P. [et al.]. Biological effects of nano-size lithium particles // *Achievements in the life sciences.* – 2012. – Vol. 5. – P. 29–46.
477. Blantz R.C. [et al.]. The complex role of nitric oxide in the regulation of glomerular ultrafiltration // *Kidney Int.* – 2002. – Vol. 61. – P. 782–785.
478. Bloch K.D. [et al.]. Inhaled NO as a therapeutic agent // *Cardiovasc Res.* – 2007. – Vol. 75, N 2. – P. 339–348.
479. Bolaños J.P., Heales S.J.R. Persistent mitochondrial damage by nitric oxide and its derivatives: neuropathological implications // *Front Neuroenergetics.* – 2010. – Vol. 2. – P. 1–9.
480. Borodulin R.R. [et al.]. A simple protocol for the synthesis of dinitrosyl iron complexes with glutathione: EPR, optical, chromatographic and biological

- characterization of reaction products // Nitric Oxide. – 2013. – Vol. 35. – P. 110–115.
481. Borutaite V., Morkuniene R., Brown G.C. Nitric oxide donors, nitrosothiols and mitochondrial respiration inhibitors induce caspase activation by different mechanisms // FEBS Lett. – 2000. – Vol. 467, N 2–3. – P. 155–159.
482. Bosman G.J. [et al.]. Comparative proteomics of erythrocyte aging in vivo and in vitro // J. Proteomics. – 2010. – Vol. 73, N 3. – P. 396–402.
483. Boudreau A. [et al.]. Metabolic plasticity underpins innate and acquired resistance to LDHA inhibition // Nat Chem Biol. – 2016. – Vol. 12, N 10. – P. 779–786.
484. Brand M. The sites and topology of mitochondrial superoxide production // Experimental gerontology. – 2010. – Vol. 45. – P. 466–472.
485. Breatnach C.R. [et al.]. The Use of Inhaled Nitric Oxide in a Tertiary Neonatal Intensive Care Unit // Ir. Med J. – 2015. – Vol. 108, N 9. – P. 275–278.
486. Bredt D.S. Nitric Oxide Signaling in Brain: Potentiating the Gain with YC-1 // Molecular Pharmacology. – 2003. – Vol. 63. – P. 1206–1208.
487. Brigelius-Flohé R., Maiorino M. Glutathione peroxidases // Biochimica et Biophysica Acta. – 2013. – Vol. 1830. – P. 3289–3303.
488. Brookes P.S. Mitochondrial nitric oxide synthase // Mitochondrion. – 2004. – Vol. 3, N 4. – P. 187–204.
489. Brücken A. [et al.]. Effects of inhaled nitric oxide on outcome after prolonged cardiac arrest in mild therapeutic hypothermia treated rats // Sci Rep. – 2018. – Vol. 8, N 1. – P. 6743.
490. Brücken A. [et al.]. Brief inhalation of nitric oxide increases resuscitation success and improves 7-day-survival after cardiac arrest in rats: a randomized controlled animal study // Crit Care. – 2015. – Vol. 19. – P. 408.
491. Bruins M.J. [et al.]. In vivo measurement of nitric oxide production in porcine gut, liver and muscle during hyperdynamic endotoxaemia // British Journal of Pharmacology. – 2002. – Vol. 137, N 8. – P. 1225–1236.

492. Bryan N.S., Grisham M.B. Methods to detect nitric oxide and its metabolites in biological samples // *Free Radic Biol. Med.* – 2007. – Vol. 43, N 5. – P. 645–657.
493. Bryan N.S. Analytical techniques for assaying nitric oxide bioactivity // *J. Vis Exp.* – 2012. – Vol. 64. – P. 3722.
494. Budas G.R., Disatnik M.-H., Mochly-Rosen D. Aldehyde dehydrogenase 2 in cardiac protection: a new therapeutic target? // *Trends Cardiovasc Med.* – 2009. – Vol. 19, N 5. – P. 158–164.
495. Burcham P.C. [et al.]. Carbonyl-scavenging drugs & protection against carbonyl stress-associated cell injury // *Mini Rev Med Chem.* – 2008. – Vol. 4, N 8. – P. 319–330.
496. Bzowska M. [et al.]. Exogenous nitric oxide inhibits shedding of ADAM17 substrates // *Acta Biochimica Polonica.* – 2009. – Vol. 56, N 2. – P. 325–335.
497. Calabrese V. [et al.]. Nitric oxide in cell survival: a janus molecule // *Antioxidants and Redox Signaling.* – 2009. – Vol. 11, N 11. – P. 2717–2739.
498. Cape J.L. [et al.]. Substrate redox potential controls superoxide production kinetics in the cytochrome bc 1 complex // *Biochemistry.* – 2009. – Vol. 48, N 45. – P. 10716–10723.
499. Carrol J. [et al.]. Measurement of the molecular masses of hydrophilic and hydrophobic subunits of ATP synthase and complex I in a single experiment // *Anal. Biochem.* – 2009. – Vol. 395, N 2. – P. 249–255.
500. Carvalho F.A.D., Afonso C.L. Treatment physical therapy ambulatory of injuries for burning using laser device of low power // *Abstracts from the 13th Congress of the International Society for Burn Injuries.* – 2007. – Vol. 33, N 1. – P. 8–9.
501. Cattaruzza M., Hecker M. Protein Carbonylation and Decarboxylation // *Circulation Research.* – 2008. – N 102. – P. 273–285.
502. Cauwels A. Nitric oxide in shock // *Kidney Int.* – 2007. – Vol. 72, N 5. – P. 557–565.

503. Cenedella RJ. Specific Labeling of Lens Aldehyde Dehydrogenase Class 1 from (3) H-Cholesterol or its Derivatives // *Ophthalmic Res.* – 2001. – Vol. 33, N 4. – P. 210–216.
504. Champion H.C., Skaf M.W., Hare J.M. Role of nitric oxide in the pathophysiology of heart failure // *Heart Fail. Rev.* – 2003. – Vol. 8, N 1. – P. 35–46.
505. Chang J.S., Hsiao J.-R., Chen C.-H. ALDH2 polymorphism and alcohol-related cancers in Asians: a public health perspective // *Journal of Biomedical Science.* – 2017. – Vol. 24, N 19. – P. 1–10.
506. Changjian F. Mechanism of Nitric Oxide Synthase Regulation: Electron Transfer and Interdomain Interactions // *Coord Chem Rev.* – 2012. – Vol. 256, N 3–4. – P. 393–411.
507. Charriaut-Marlangue C. [et al.]. Inhaled nitric oxide reduces brain damage by collateral recruitment in a neonatal stroke model // *Stroke.* – 2012. – Vol. 43, N 11. – P. 3078–3084.
508. Chattopadhyay P. [et al.]. L-arginine protects from pringle manoeuvre of ischemia-reperfusion induced liver injury // *Biol. Pharm Bull.* – 2008. – Vol. 31, N 5. – P. 890–892.
509. Chelikani P., Fita I., Loewen P.C. Diversity of structures and properties among catalases // *Cell Mol. Life Sci.* – 2004. – Vol. 61, N 2. – P. 192–208.
510. Chen C.H., Joshi A.U., Mochly-Rosen D. The Role of Mitochondrial Aldehyde Dehydrogenase 2 (ALDH2) in Neuropathology and Neurodegeneration // *Acta Neurol Taiwan.* – 2016. – Vol. 25, N 4. – P. 111–123.
511. Chen C.Y. [et al.]. Blood clotting by low temperature air plasma // *IEEE Trans on Plasma Science.* – 2009. – Vol. 37. – P. 993–999.
512. Chen K., Popel A.S. Theoretical analysis of biochemical pathways of nitric oxide release from vascular endothelial cells // *Free Radic. Biol. Med.* – 2006. – Vol. 41, N 4. – P. 668–680.
513. Chen L.W. [et al.]. Inhibition of inducible nitric oxide synthase (iNOS) prevents lung neutrophil deposition and damage in burned rats // *Shock.* – 2001. –

Vol. 15, N 2. – P. 151–156.

514. Chen Q. [et al.]. Production of reactive oxygen species by mitochondria // *J. Biol. Chem.* – 2003. – Vol. 278, N 38. – P. 36027–36031.

515. Chen Z. [et al.]. An essential role for mitochondrial aldehyde dehydrogenase in nitroglycerin bioactivation // *PNAS.* – 2005. – Vol. 102, N 34. – P. 12159–12164.

516. Cheng C.H. [et al.]. Higher plasma pyridoxal phosphate is associated with increased antioxidant enzyme activities in critically ill surgical patients // *Biomed. Res. Int.* – 2013; URL: <http://www.hindawi.com/journals/bmri/2013/572081>

517. Chien P.J. [et al.]. Optical isopropanol biosensor using NADH-dependent secondary alcohol dehydrogenase (S-ADH) // *Talanta.* – 2016. – Vol. 159. – P. 418–424.

518. Chris E., Cooper G., Brown C. The inhibition of mitochondrial cytochrome oxidase by the gases carbon monoxide, nitric oxide, hydrogen cyanide and hydrogen sulfide: chemical mechanism and physiological significance // *Bioenerg Biomembr.* – 2008. – Vol. 40. – P. 533–539.

519. Christian D., Arnfried U.K., Markus P.S. The role of nitric oxide in the regulation of glomerular haemodynamics in humans // *Handrock. Nephrol. Dial Transplant.* – 2004. – Vol. 19. – P. 1392–1397.

520. Chu S.J. [et al.]. Influence of hyperbaric oxygen on tumor necrosis factor- $\alpha$  and nitric oxide production in endotoxin-induced acute lung injury in rats // *Pulm Pharmacol Ther.* – 2007. – Vol. 20, N 6. – P. 684–690.

521. Clennan E.L., Pace A. Advances in singlet oxygen chemistry // *Tetrahedron.* – 2005. – Vol. 61, N 28. – P. 6665–6691.

522. Colak E. New markers of oxidative damage to macromolecules // *JMB.* – 2008. – Vol. 27, N 1. – P. 1–16.

523. Cong J. [et al.]. A novel chemoradiation targeting stem and nonstem pancreatic cancer cells by repurposing disulfiram // *Cancer Lett.* – 2017. – Vol. 409. – P. 9–19.

524. Conti E. Burns of the hand in children // *Chir Main.* – 2013. – Vol.1. – P.63–71.
525. Cooper T.G., Beevers H.J. Mitochondria and glyoxysomes from castor bean endosperm enzyme constituents and catalytic capacity // *J. Biol. Chem.* – 1969. – Vol. 244. – P. 3507–3513.
526. Cooper C.E., Brown G.C. The inhibition of mitochondrial cytochrome oxidase by the gases carbon monoxide, nitric oxide, hydrogen cyanide and hydrogen sulfide: chemical mechanism and physiological significance // *Bioenerg Biomembr.* – 2008. – Vol. 40. – P. 533–539.
527. Cooper R.G., Magwere T. Nitric oxide-mediated pathogenesis during nicotine and alcohol consumption // *Indian J Physiol Pharmacol.* – 2008. – Vol. 52, N 1. – P. 11–18.
528. Copp S.W. [et al.]. Nitric oxide synthase inhibition during treadmill exercise reveals fiber-type specific vascular control in the rat hindlimb // *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* – 2010. – Vol. 298, N 2. – P 478–85.
529. Corbelli R., Hammer J. Measurement of Nasal Nitric Oxide // *Prog Respir Res. Basel Karger.* – 2005. – Vol. 33. – P. 181–189.
530. Cornejo A. [et al.]. The use of visible light spectroscopy to measure tissue oxygenation in free flap reconstruction // *J Reconstr Microsurg.* – 2011. – Vol. 27, N 7. – P. 397–402.
531. Cosby K., Partovi K.S., Crawford J.H. Nitrite reduction to nitric oxide by deoxyhemoglobin vasodilates the human circulation // *Nature medicine.* – 2003. – Vol. 9, N 12. – P. 1498–1505.
532. Cox R.A. [et al.]. Pulmonary expression of nitric oxide synthase isoforms in sheep with smoke inhalation and burn injury // *Exp Lung Res.* – 2009. – Vol. 35, N 2. – P. 1–20.
533. Crimi E. [et al.]. The role of oxidative stress in adult critical care // *Free Radic. Biol. Med.* – 2006. – Vol. 40, N 3. – P. 398–406.
534. Cui X.L. [et al.]. Arginine-supplemented diet decreases expression of inflammatory cytokines and improves survival in burn rats // *J. Parenter. Enteral*

- Nutr. – 2000. – Vol. 24, N 1. – P. 89–96.
535. Daff S. NO synthase: structures and mechanisms // Nitric Oxide. – 2010. – Vol. 23, N 1. – P. 1–11.
536. Danson E.J., Paterson D.J. Cardiac neurobiology of nitric oxide synthases // Ann. N.Y. Acad. Sci. – 2005. – Vol. 1047. – P. 183–196.
537. DeMaster E.G. [et al.]. Mechanism for the inhibition of aldehyde dehydrogenase by nitric oxide // Alcohol. – 1997. – Vol. 14, N 2. – P. 181–189.
538. Deng H. [et al.]. Source of catalysis in the lactate dehydrogenase system. Ground-state interactions in the enzyme-substrate complex // Biochemistry. – 1994. – Vol. 33, N 8. – P. 2297–2305.
539. Desrois M. [et al.]. Expression of the three nitric oxide synthase isoforms and nitric oxide level in the rat heart during cold storage and blood reperfusion // Cell Mol Biol. – 2009. – Vol. 55. – P. 1208–1214.
540. Devenish R.J., Prescott M., Rodgers A.J. The structure and function of mitochondrial F1F0-ATP synthases // Int. Rev Cell Mol. Biol. – 2008. – V. 267. – P. 1–58.
541. Diaz-Ruiz R., Rigoulet M., Devin A. The Warburg and Crabtree effects: On the origin of cancer cell energy metabolism and of yeast glucose repression // Biochim. Biophys. Acta. – 2011. – Vol. 1807, N 6. – P. 568–576.
542. Di Genova T. [et al.]. A Stewardship Program to Optimize the Use of Inhaled Nitric Oxide in Pediatric Critical Care // Qual Manag Health Care. – 2018. – Vol. 27, N 2. – P. 74–80.
543. Doctor A., Stamler J.S. Nitric oxide transport in blood: a third gas in the respiratory cycle // Compr Physiol. – 2011. – Vol. 1, N 1. – P. 541–568.
544. Do Rosário Caneira da Silva M. [et al.]. Nitric oxide and human thermal injury short term outcome // Burns. – 1998. – Vol. 24, N 3. – P. 207–212.
545. Dries D.J., Endorf F.W. Inhalation injury: epidemiology, pathology, treatment strategies // Scandinavian Journal of Trauma, Resuscitation and Emergency Medicine. – 2013. – Vol. 21, N 31. – P. 1–15.

546. Dröse S., Hanley P.J., Brandt U. Ambivalent effects of diazoxide on mitochondrial ROS production at respiratory chain complexes I and III // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2009. – Vol. 1790, N 6. – P. 558–565.
547. Duan R. [et al.]. Biphasic regulation of P-glycoprotein function and expression by NO donors in Caco-2 cells // *Acta Pharmacologica Sinica.* – 2012. – Vol. 33. – P. 767–774.
548. Duan Y. [et al.]. The effects of nano-anatase TiO<sub>2</sub> on the activation of lactate dehydrogenase from rat heart // *Biol Trace Elem Res.* – 2009. – Vol. 130, N 2. – P. 162–71.
549. Duarte S. [et al.]. Air plasma effect on dental disinfection// *Physics of Plasmas.* – 2011. – Vol. 18. – P. 1–7.
550. Dufour Y.S., Landick R. Donohue T.J. Organization and Evolution of the Biological Response to Singlet Oxygen Stress // *J Mol Biol.* – 2008. – Vol. 383, N 3. – P. 713–730.
551. Dyck L.E. Isoenzymes of aldehyde dehydrogenase in human lymphocytes // *Alcohol Clin Exp Res.* – 1990. – Vol. 14, N 4. – P. 534–538.
552. Dyke K.V. [et al.]. Does Nitric Oxide (NO) and/or Superoxide ( $\cdot\text{O}_2^-$ ) Cause Type 2 Diabetes and can it be Prevented? // *Biol Med J.* – 2014. – Vol. 6, N 1. – P. 1000195–1000204.
553. Dzurik R., Spustova V., Gajdos M. Nitric oxide modulation of metabolic and haemodynamic balance // *Bratisl Lek Listy.* – 2005. – Vol. 106, N 8–9. – P. 252 – 256.
554. Edenberg H.J. The genetics of alcohol metabolism: role of alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase variants // *Alcohol Res Health.* – 2007. – Vol. 30, N 1. – P. 5–13.
555. Elchur S. [et.al.]. CuZnSOD deficiency leads to persistent and widespread oxidative damage and hepatocarcinogenesis later in life // *Oncogene.* – 2005. – Vol. 24. – P. 367–380.

556. England K., Cotter C.T. Direct oxidative modifications of signalling proteins in mammalian cells and their effects on apoptosis // *Redox Report.* – 2005. – N 10. – P. 237–245.
557. Enkhbaatar P. [et al.]. Effect of inhaled nitric oxide on pulmonary vascular hyperpermeability in sheep following smoke inhalation // *Burns.* – 2005. – Vol. 31, N 8. – P. 1013–1019.
558. Enkhbaatar P. [et al.]. Mechanistic aspects of inducible nitric oxide synthase-induced lung injury in burn trauma // *Burns.* – 2011. – Vol. 37, N 4. – P. 638–645.
559. Estévez A.G., Jordán J. Nitric Oxide and Superoxide, a Deadly Cocktail // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* – 2002. – Vol. 962. – P. 207–211.
560. Fabian E. [et al.]. Activities of xenobiotic metabolizing enzymes in rat placenta and liver in vitro // *Toxicol In Vitro.* – 2016. – Vol. 33. – P. 174–179.
561. Fantin V.R., St-Pierre J., Leder P. Attenuation of LDH-A expression uncovers a link between glycolysis, mitochondrial physiology, and tumor maintenance // *Cancer Cell.* – 2006. – N 9. – P. 425–434.
562. Fato R. [et al.]. Differential effects of mitochondrial complex I inhibitors on production of reactive oxygen species // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2009. – Vol. 1787, N 5. – P. 384–392.
563. Feng Y. [et al.]. Alkali burn causes aldehyde dehydrogenase 3A1 (ALDH3A1) decrease in mouse cornea // *Molecular Vision.* – 2004. – Vol. 10. – P. 845–850.
564. Fields P.A. [et al.]. Temperature adaptation in *Gillichthys* (Teleost: Gobiidae) A(4)-lactate dehydrogenases: identical primary structures produce subtly different conformations // *J Exp Biol.* – 2002. – Vol. 205, N 9. – P. 1293–1303.
565. Flors C., Nonell S. Light and singlet oxygen in plant defense against pathogens: Phototoxic phenalenone phytoalexins // *Acc. Chem. Res.* – 2006. – Vol. 39, N 5. – P. 293–300.
566. Flynn T.G. [et al.]. *Enzymology and Molecular Biology of Carbonyl Metabolism*, 15th International Meeting on Enzymology and Molecular Biology of

Carbonyl Metabolism. Introduction // *Chem Biol Interact.* – 2011. – Vol. 191, N 1–3. – P. 1.

567. Forstermann U., Sessa W.S. Nitric oxide syntheses: regulation and function // *European Heart Journal.* – 2012. – Vol. 33, N. 7. – P. 829–837.

568. Galter D. [et al.]. Distribution of class I, III and IV alcohol dehydrogenase mRNAs in the adult rat, mouse and human brain // *Eur. J. Biochem.* – 2005. – Vol. 270. – P. 1316–1326.

569. Garcia N.M., Horton J.W. L-arginine improves resting cardiac transmembrane potential after burn injury // *Shock.* – 1994. – Vol. 1, N 5. – P. 354–358.

570. Garcia-Garcia A., Rodriguez-Rocha H., Madayiputhiya N. Biomarkers of Protein oxidation in human Disease // *Curr. Mol.Med.* – 2012. – Vol. 12, N 6. – P. 681–697.

571. Georgieva E. [et al.]. Mitochondrial Dysfunction and Redox Imbalance as a Diagnostic Marker of "Free Radical Diseases" // *Anticancer Res.* – 2017. – Vol. 37, N 10. – P. 5373–5381.

572. Gerlach H. [et al.]. Time-course and dose-response of nitric oxide inhalation for systemic oxygenation and pulmonary hypertension in patients with adult respiratory distress syndrome // *Eur J Clin Invest.* – 1993. – Vol. 23, N 8. – P. 499–502.

573. Ghasemiand A., Zahediasl S. Is Nitric Oxide a Hormone? // *Iranian Biomedical Journal.* – 2011. – Vol. 15, N 3. – P. 59–65.

574. Giliano N. Ya. [et al.]. Dinitrosyl iron complexes with thiol-containing ligands and apoptosis: studies with HeLa cell cultures // *Nitric Oxide Biol. Chem.* – 2011. – Vol. 24. – P.151–159.

575. Gladwin M.T. [et al.]. Nitric oxide's reactions with hemoglobin: a view through the SNO-storm // *Nat. Med.* – 2003. – N 5. – P. 496–500.

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

577. Goldstein R., Augustin A., Milz J. Influence of free radical scavengers on myeloperoxidase activity and lipid peroxidation in acute skin grafts // *Oxygen Transport to Tissue XIII* / T.K.Goldstick eds. N.Y.: Plenum Press, – 2003. – P. 253–258.
578. Gong X., Xie W.G. Abnormality in bone metabolism after burn // *Zhonghua Shao Shang Za Zhi*. – 2016. – Vol. 32, N 8. – P. 502–504.
579. Goodyear-Bruch C., Pierce J.D. Oxidative stress in critically ill patients // *Am. J. Crit. Care*. – 2002. – Vol. 11. – P. 543–551.
580. Goto T. [et al.]. Enzymatic and thermodynamic profiles of a heterotetramer lactate dehydrogenase isozyme in swine // *Biochem Biophys Res Commun*. – 2016. – Vol. 479, N 4. – P. 860–867.
581. Grasmann H. [et al.]. Effect of ivacaftor therapy on exhaled nitric oxide in patients with cystic fibrosis // *J. Cyst. Fibros*. – 2015. – Vol. 14, N 6. – P. 727–732.
582. Grune T., Berger M.M. Markers of oxidative stress in ICU clinical settings: present and future // *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*. – 2007. – Vol. 10, N 6. – P. 712–717.
583. Guilivi C. Mitochondria as generators and targets of nitric oxide // *Mitochondrial Biology: New Perspectives: Novartis Foundation Symposium*. – 2007. – Vol. 287. – P. 92–100.
584. Gupta K.J. [et al.]. Interaction of nitric oxide with the components of the plant mitochondrial electron transport chain // *J Exp Bot*. – 2018. – Vol. 69, N 14. – P. 3413–3424.
585. Gustavo R. A., Ortiz P.A. Constitutive endocytosis and recycling of NKCC2 in rat thick ascending Limbs // *Am. J. Physiol. Renal Physiol*. – 2010. – Vol. 299. – P. 1193-1202.
586. Habib S., Ali A. Biochemistry of Nitric Oxide // *Ind J Clin Biochem*. – 2011. – Vol. 26, N 1. – P. 3–17.
587. Hall C.N., Garthwaite J. What is the real physiological NO concentration in vivo? // *Nitric Oxide Biol. Chem*. – 2009. – Vol. 12, N 2. – P. 92–103.

588. Handbook of Flavoproteins: Volume 2 Complex Flavoproteins, Dehydrogenases and Physical Methods / R. Hille, S. Miller, B. Palfey eds. Berlin: Walter de Gruyter & Co, – 2013. First Edit. – 436 p.
589. Hansell N.K. [et al.]. Erythrocyte aldehyde dehydrogenase activity: lack of association with alcohol use and dependence or alcohol reactions in Australian twins // Alcohol Alcohol. – 2005. – Vol. 40, N 5. – P. 343–348.
590. Hara M. [et al.]. The Arabidopsis KS-type dehydrin recovers lactate dehydrogenase activity inhibited by copper with the contribution of His residues // Plant Sci. – 2016. – Vol. 245. – P. 135–142.
591. Hare J.M. Spatial confinement of isoforms of cardiac nitric-oxide synthase: unravelling the complexities of nitric oxide's cardiobiology // Lancet. – 2004. – Vol. 363, N 9418. – P.1338–1339.
592. Harper R. [et al.]. Nitric oxide production in burns: plasma nitrate levels are not increased in patients with minor thermal injuries // J Trauma. – 1997. – Vol. 43, N 3. – P. 467–474.
593. Hayes J.D., Flanagan J.U., Jowsey I.R. Glutathione transferases // Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. – 2005. – Vol. 45. – P. 51–88.
594. Heinonen I. [et al.]. Effect of nitric oxide synthase inhibition on the exchange of glucose and fatty acids in human skeletal muscle // Nutr Metab. – 2013. – Vol. 1, N 1. – P. 43.
595. Henehan G.T., Tipton K.F. Steady-state kinetic analysis of aldehyde dehydrogenase from human erythrocytes // Biochem J. – 1992. – Vol. 1, N 287. – P. 145–150.
596. Henstridge D.C. [et al.]. The effect of the nitric oxide donor sodium nitroprusside on glucose uptake in human primary skeletal muscle cells // Nitric Oxide. – 2009. – Vol. 21, N 2. – P. 126–131.
597. Heo J., Livnat-Levanon N., Taylor E. A stress-responsive system for mitochondrial protein degradation // Molecular cell. – 2010. – Vol. 40, N 3. – P. 465–480.

598. Herdendorf T.J., Plapp B.V. Origins of the High Catalytic Activity of Human Alcohol Dehydrogenase 4 Studied with Horse Liver A317C Alcohol Dehydrogenase // *Chem Biol Interact.* – 2011. – Vol. 191, N 1–3. – P. 42–47.
599. Herrera M., Silva G., Garvin J.L. A high-salt diet dissociates NO synthase-3 expression and NO production by the THAL // *Hypertension.* – 2006. – V. 47. – P. 95–101.
600. Herring N. [et al.]. NO-cGMP pathway increases the hyperpolarisation-activated current,  $I_{(f)}$ , and heart rate during adrenergic stimulation // *Cardiovasc. Res.* – 2001. – Vol. 52. – P. 446–453.
601. Hink U. [et al.]. Oxidative inhibition of the mitochondrial aldehyde dehydrogenase promotes nitroglycerin tolerance in human blood vessels // *Journal of the American College of Cardiology.* – 2007. – Vol. 50, N 23. – P. 2227–2232.
602. Holm N.B., Noble C., Linnet K. JWH-018  $\omega$ -OH, a shared hydroxy metabolite of the two synthetic cannabinoids JWH-018 and AM-2201, undergoes oxidation by alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase enzymes in vitro forming the carboxylic acid metabolite // *Toxicol Lett.* – 2016. – Vol. 259. – P. 35–43.
603. Hon W.M., Lee K.H., Khoo H.E. Nitric oxide in liver diseases: friend, foe, or just passerby? // *Ann. NY Acad. Sci.* – 2002. – Vol. 962. – P. 275–295.
604. Horton J.W. Free radicals and lipid peroxidation mediated injury in burn trauma: the role of antioxidant therapy // *Toxicology.* – 2003. – Vol. 189, N 1–2. – P. 75–88.
605. Horvat S., Jakas A. Peptide and amino acid glycation: new insights into the Maillard reaction // *J Pept Sci.* – 2004. – Vol. 10, N 3. – P. 119–137.
606. Hosnuter M. [et al.]. The effect of CAPE on lipid peroxidation and nitric oxide levels in the plasma of rats following thermal injury // *Burns.* – 2004. – Vol. 30, N 2. – P. 121–125.
607. Hu Y. [et al.]. Mitochondrial aldehyde dehydrogenase activity protects against lipopolysaccharide-induced cardiac dysfunction in rats // *Mol Med Rep.* – 2015. – Vol. 11, N 2. – P. 1509–1515.

608. Hua-Huy T. [et al.]. Inhaled nitric oxide decreases pulmonary endothelial nitric oxide synthase expression and activity in normal newborn rat lungs // *ERJ Open Res.* – 2016. – N 2. – P. 60–85.
609. Huang H. [et al.]. Two clinical drugs deubiquitinase inhibitor auranofin and aldehyde dehydrogenase inhibitor disulfiram trigger synergistic anti-tumor effects in vitro and in vivo // *Oncotarget.* – 2016. – Vol. 7, N 3. – P. 2796–2808.
610. Hwang J.Y. [et al.]. Photoexcitation of tumor-targeted corroles induces singlet oxygen-mediated augmentation of cytotoxicity // *J Control Release.* – 2012. – Vol. 163, N 3. – P. 368–373.
611. Hwang C.S. [et al.]. Protective roles of mitochondrial manganese-containing superoxide dismutase against various stresses in *Candida albicans* // *Yeast.* – 2003. – Vol. 20, N 11. – P. 929–941.
612. Hybertson B.M. [et al.]. Oxidative stress in health and disease: the therapeutic potential of Nrf2 activation // *Mol Aspects Med.* – 2011. – Vol. 32, N 4–6. – P. 234–246.
613. Ichihashi M. [et al.]. Glycation stress and photo-aging in skin // *Anti-Aging Med.* – 2011. – Vol. 8. – P. 23–29.
614. Imai Y. [et al.]. Identification of oxidative stress and Toll-like receptor 4 signaling as a key pathway of acute lung injury // *Cell.* – 2008. – Vol. 133, N 2. – P. 235–249.
615. Indo H.P. [et al.]. A mitochondrial superoxide theory for oxidative stress diseases and aging // *J. Clin. Biochem. Nutr.* – 2015. – Vol. 56, N 1. – P. 1–7.
616. Jacob S. [et al.]. Xanthine oxidase contributes to sustained airway epithelial oxidative stress after scald burn // *Int J Burns Trauma.* – 2017. – Vol. 7, N 6. – P. 98–106.
617. Jain S. [et al.]. Nitric oxide release is not required to decrease the ulcerogenic profile of nonsteroidal anti-inflammatory drugs // *J. Med. Chem.* – 2011. – Vol. 55, N 2. – P. 688–696.

618. Jakobsson P.J. [et al.]. Membrane-associated proteins in eicosanoid and glutathione metabolism (MAPEG). A widespread protein superfamily // *Am. J Respir. Crit. Care Med.* – 2000. – V. 161. – P. 20–24.
619. Jelski W. [et al.]. The diagnostic value of alcohol dehydrogenase (ADH) isoenzymes and aldehyde dehydrogenase (ALDH) measurement in the sera of patients with brain tumor // *Arch Med Sci.* – 2017. – Vol. 13, N 2. – P. 346–352.
620. Jelski W., Chrostek L., Szmitkowski M. Human aldehyde dehydrogenase (ALDH) // *Postepy Hig Med Dosw.* – 2001. – Vol. 55, N 2. – P.339–348.
621. Jelski W. [et al.]. Serum Alcohol Dehydrogenase and Aldehyde Dehydrogenase Activity in the Course of Hepatitis C // *Clin Lab.* – 2016. – Vol. 62, N 11. – P. 2155–2159.
622. Jensen D.E., Belka G.K., Bois G.C. S-Nitrosoglutathione is a substrate for rat alcohol dehydrogenase class III isoenzymes // *Biochem. J.* – 1998. – Vol. 331, N 2. – P. 659–668.
623. Jeong E.M. [et al.]. Metabolic stress, reactive oxygen species, and arrhythmia // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 2012. – Vol. 52, N 2. – P. 454–463.
624. Jin N. [et al.]. Disulfiram/copper targets stem cell-like ALDH<sup>+</sup> population of multiple myeloma by inhibition of ALDH1A1 and Hedgehog pathway // *J Cell Biochem.* – 2018. – Vol. 119, N 8. – P. 6882–6893.
625. Jockusch S. [et al.]. Singlet molecular oxygen by direct excitation // *Photochem. Photobiol. Sci.* – 2008. – Vol. 7, N 2. – P. 235–239.
626. Johansson B. [et al.]. Dose-effect relationship of disulfiram in human volunteers. II: A study of the relation between the disulfiram-alcohol reaction and plasma concentrations of acetaldehyde, diethyldithiocarbamic acid methyl ester, and erythrocyte aldehyde dehydrogenase activity // *Pharmacol Toxicol.* – 1991. – Vol. 68, N 3. – P. 166–170.
627. Kalb V.F. Jr, Bernlohr R.W. A new spectrophotometric assay for protein in cell extracts // *Anal Biochem.* – 1977. – Vol. 82, N 2. – P. 362–371.

628. Kanai A., Peterson J. Function and regulation of mitochondrially produced nitric oxide in cardiomyocytes // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2004. – Vol. 286, N 1. – P. H11–H12.
629. Kasprzak J. [et al.]. Characterization of an *Arxula adenivorans* alcohol dehydrogenase involved in the metabolism of ethanol and 1-butanol // *FEMS Yeast Res.* – 2016. – Vol. 16, N 3. – P. 18 – 20.
630. Katz C. [et al.]. The ubiquitous conserved glycopeptidase Gcp prevents accumulation of toxic glycated proteins // *MBio.* – 2010. – Vol. 1, N 3. – P. 1–10.
631. Keiki O., Wang D.H. Biomarkers of Oxidative Nitrosative Stress: An Approach to Disease Prevention // *Acta Med. Okayama.* – 2007. – Vol. 61, N 4. – P. 181–189.
632. Kemp M., Go Y.M., Jones D.P. Nonequilibrium thermodynamics of thiol/disulfide redox systems: a perspective on redox systems biology // *Free Radic. Biol. Med.* – 2008. – Vol. 44. – P. 921–937.
633. Keung W.M., Ho Y.W., Fong W.P. Isolation and characterization of shrew liver alcohol dehydrogenase // *Comp. Biochem. and Physiol. B.* – 1989. – Vol. 93, N 1. – P. 169–173.
634. Kitson K.E. Ethanol and acetaldehyde metabolism: past, present, and future // *Alcohol Clin Exp Res.* – 1996. – Vol. 20, N 8. – P. 82–92.
635. Klink M., Swierzko A., Sulowska Z. Nitric oxide generation from hydroxylamine in the presence of neutrophils and in the cell-free system // *APMIS.* – 2001. – V. 109. – P. 493–499.
636. Koivusalo M., Baumann M., Votila L. Evidence for the identity of glutathione - dependent formaldehyde dehydrogenase and class III alcoholdehydrogenase // *FEBS Lett.* – 1989. – Vol. 257, N 1. – P. 105–109.
637. Konstantinov A.A. Cytochrome c oxidase: Intermediates of the catalytic cycle and their energy-coupled interconversion // *FEBS letters.* – 2012. – Vol. 586, N 5. – P. 630–639.

638. Koopman W.J. [et al.]. Mammalian mitochondrial complex I: biogenesis, regulation and reactive oxygen species generation // *Antioxid. Redox. Signal.* – 2010. – V. 12, N 12. – P. 1431–1470.
639. Kopkan L., Cervenka L. Renal Interactions of Renin-Angiotensin System, Nitric Oxide and Superoxide Anion: Implications in the Pathophysiology of Salt-Sensitivity and Hypertension // *Physiol. Res.* – 2009. – Vol. 58, N 2. – P. 55–67.
640. Korshunova G.A., Shishkina A.V., Skulachev M.V. Design, Synthesis, and Some Aspects of the Biological Activity of Mitochondria-Targeted Antioxidants // *Biochemistry (Mosc).* – 2017. – Vol. 82, N 7. – P. 760–777.
641. Kostir J. Prime stanoveni michaelisovy konstanty // *Chemicke Listy.* – 1985. – Vol. 79, N 9. – P. 989–991.
642. Kovalenko O.M. Metabolic intoxication in thermic trauma // *Klin Khir.* – 2015. – N 5. – P. 77–80.
643. Kuo S.P. Air plasma for medical applications//*J. Biomedical Science and Engineering.* – 2012. – N 5. – P. 481–495.
644. Kuo S. [et al.]. Wound bleeding control by low temperature air plasma// *IEEE Transactions on Plasma Science.* – 2010. – Vol. 38. – P. 1908–1914.
645. Kuroda A. [et al.]. Effects of the common polymorphism in the human aldehyde dehydrogenase 2 (ALDH2) gene on the lung // *Respiratory Research.* – 2017. – Vol. 69, N 18. – P. 1–18.
646. Kurozumi R., Kojima Sh. Low-level nitric oxide blunts oxidant injury via up-regulating glutathione synthesis // *Journal of Health Science.* – 2002. – Vol. 48, N 2. – P. 140–147.
647. Kurz M. [et al.]. Biogenesis of Tim proteins of the mitochondrial carrier import pathway: differential targeting mechanisms and crossing over with the main import pathway // *Molecular Biology of the Cell.* – 1999. – N 10. – P. 2461–2474.
648. Lai W. [et al.]. Decontamination of biological warfare agents by a microwave plasma torch // *Physics of Plasmas.* – 2005. – N 12. – P. 023501– 023506.
649. Landis G.N., Tower J. Superoxide dismutase evolution and life span regulation // *Mech. Ageing Dev.* – 2005. – Vol. 126, N 3. – P. 365–379.

650. Landry M.P. Characterization of photoactivated singlet oxygen damage in single-molecule optical trap experiments // *Biophys. J.* – 2009. – Vol. 97, N 8. – P. 2128–2136.
651. Lang B.S. [et al.]. Vascular bioactivation of nitroglycerin by aldehyde dehydrogenase-2: reaction intermediates revealed by crystallography and mass spectrometry // *J. Biol. Chem.* – 2012. – Vol. 287, N 45. – P. 38124–38134.
652. Lange M. [et al.]. Role of nitric oxide in shock: the large animal perspective // *Front Biosci (Landmark Ed)*. – 2009. – Vol. 14. – P. 1979–1989.
653. Lee J.U. Nitric Oxide in the Kidney: Its Physiological Role and Pathophysiological Implications // *Electrolyte & Blood Pressure*. – 2008. – N 6. – P. 27–34.
654. Lee H. [et al.]. Novel mitochondria-targeted antioxidant peptide ameliorates burn-induced apoptosis and endoplasmic reticulum stress in the skeletal muscle of mice // *Shock*. – 2011. – Vol. 36, N 6. – P. 580–585.
655. Lemineur T., Deby-Dupont G., Preiser J.C. Biomarkers of oxidative stress in critically ill patients: what should be measured, when and how? // *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*. – 2006. – Vol. 9, N 6. – P. 704–710.
656. Levine R.L. Carbonyl modified proteins in cellular regulation, aging, and disease // *Free Radic. Biol. Med.* – 2002. – Vol. 32. – P. 790–796.
657. Lewis W.H., Sun K.K. Hypertrophic scar: a genetic hypothesis // *Burns*. – 1990. – Vol. 16, N 3. – P. 176–178.
658. Lichtenstern C. [et al.]. Lipid peroxidation in acute respiratory distress syndrome and liver failure // *J. Surg. Res.* – 2011. – Vol. 168, N 2. – P. 243–252.
659. Lin Z., Zheng J. Occurrence, characteristics, and applications of fructosyl amine oxidases (amadoriases) // *Appl Microbiol Biotechnol.* – 2010. – Vol. 86, N 6. – P. 1613–1619.
660. Lin S. [et al.]. In vitro organic nitrate bioactivation to nitric oxide by recombinant aldehyde dehydrogenase 3A1 // *Nitric Oxide*. – 2013. – Vol. 35. – P. 137–143.

661. Lindahl R., Evces S. Rat liver aldehyde dehydrogenase. I. Isolation and characterization of four high Km normal liver isozymes // *The Journal of biological Chemistry*. – 1984. – Vol. 259, N 19. – P. 11986–11990.
662. Lipsky J.J., Shen M.L., Naylor S. In vivo inhibition of aldehyde dehydrogenase by disulfiram // *Chem Biol Interact*. – 2001. – Vol. 130–132, N 1–3. – P. 93–102.
663. Liu J., Waalkes M.P. Nitric oxide and chemically induced hepatotoxicity: beneficial effects of the liver-selective nitric oxide donor, V-PYRRO/NO // *Toxicology*. – 2005. – Vol. 208, N 2. – P. 289–297.
664. Liu L. [et al.]. Promoter variant in the catalase gene is associated with vitiligo in chinese people // *J. Invest. Dermatol*. – 2010. – Vol. 130. – P. 2647–2653.
665. Liu C. [et al.]. Mechanism of faster NO scavenging by older stored red blood cells // *Redox Biol*. – 2014. – N 2. – P. 211–219.
666. Liu X.-zhen [et al.]. Aldehyde dehydrogenase 2 overexpression inhibits neuronal apoptosis after spinal cord ischemia/reperfusion injury // *Neural Regen Res*. – 2017. – Vol. 12, N 7. – P. 1166–1171.
667. Lok H.C. [et al.]. Glutathione S-transferase and MRP1 form an integrated system involved in the storage and transport of dinitrosyl-dithiolato iron complexes in cells // *Free Radic Biol Med*. – 2014. – Vol. 75. – P. 14–29.
668. Lubec G. [et al.]. Reduced aldehyde dehydrogenase levels in the brain of patients with Down syndrome // *J. Neural Transm Suppl*. – 1999. – Vol. 57. – P. 21–40.
669. Lubitz A.L. [et al.]. Acute right heart failure after hemorrhagic shock and trauma pneumonectomy-a management approach: A blinded randomized controlled animal trial using inhaled nitric oxide // *J Trauma Acute Care Surg*. – 2017. – Vol. 82, N 2. – P. 243–251.
670. Luo M. [et al.]. Depletion of plasma antioxidants in surgical intensive care unit patients requiring parenteral feeding: effects of parenteral nutrition with or without alanyl-glutamine dipeptide supplementation // *Nutrition*. – 2008. – Vol. 24, N 1. – P. 37–44.

671. Luo M., Tanner J.J. Structural Basis of Substrate Recognition by Aldehyde Dehydrogenase 7A1 // *Biochemistry*. – 2015. – Vol. 54, N 35. – P. 5513–5522.
672. Lushchak V.I. Classification of oxidative stress based on its intensity // *EXCLI J*. – 2014. – Vol. 13. – P. 922–937.
673. Ma L., Lu Z.N. Role of ADH1B rs1229984 and ALDH2 rs671 gene polymorphisms in the development of Alzheimer's disease // *Genet Mol Res*. – 2016. – Vol. 15, N 4. – P. 235-244.
674. MacKay M. [et al.]. Modulation of Central Nitric Oxide as a Therapeutic Strategy for Schizophrenia // *Bulletin of Clinical Psychopharmacology*. – 2010. – Vol. 20, N 2. – P. 115–119.
675. Mackenzie I.S. [et al.]. Aldehyde dehydrogenase 2 plays a role in the bioactivation of nitroglycerin in humans // *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. – 2005. – Vol. 25, N 9. – P. 1891–1895.
676. Maisch T. [et al.]. The role of singlet oxygen and oxygen concentration in photodynamic inactivation of bacteria // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2007. – Vol. 104, N 17. – P. 7223–7228.
677. Malátková P. [et al.]. Carbonyl reduction of warfarin: Identification and characterization of human warfarin reductases // *Biochem Pharmacol*. – 2016. – Vol. 109. – P. 83–90.
678. Mallis R.J., Buss J.E., Thomas J.A. Oxidative modification of H-ras: S-thiolation and S-nitrosilation of reactive cysteines // *Biochem. J*. – 2001. – V. 355. – P. 145–53.
679. Manna A. [et al.]. Clinical application of exhaled nitric oxide measurement in pediatric lung diseases // *Italian Journal of Pediatrics*. – 2012. – Vol. 38. – P. 74–83.
680. Manzanares W. [et al.]. Antioxidant micronutrients in the critically ill: asystematic review and metaanalysis // *Critical Care*. – 2012. – Vol. 16, N 2 – P. 1–13.

681. Mao N. [et al.]. Association between alcohol dehydrogenase-2 gene polymorphism and esophageal cancer risk: a meta-analysis // *World J Surg Oncol.* – 2016. – Vol. 14, N 1. – P. 191.
682. Marschall H.U. [et al.]. Human liver class I alcohol dehydrogenase gammagamma isozyme: the sole cytosolic 3beta-hydroxysteroid dehydrogenase of iso bile acids // *Hepatology.* – 2000. – Vol. 31, N 4. – P. 990–996.
683. Mårten Wikström. Active site intermediates in the reduction of O<sub>2</sub> by cytochrome oxidase, and their derivatives // *Biochimica et Biophysica Acta – Bioenergetics.* – 2012. – Vol. 1817, N 4. – P. 468–475.
684. Masella R. [et al.]. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes // *Nutr. Biochem.* – 2005. – Vol. 16, N 10. – P. 577–586.
685. Mathur V. [et al.]. Physiological and Pathophysiological Functions of Nitric Oxide // *Der Pharmacia Lettre.* – 2010. – Vol. 2, N 2. – P. 244–257.
686. Matsumoto A. [et al.]. Roles of defective ALDH2 polymorphism on liver protection and cancer development // *Environ Health Prev Med.* – 2016. – Vol. 21, N 6. – P. 395–402.
687. Maybauer M.O. [et al.]. Pathophysiology of acute lung injury in severe burn and smoke inhalation injury // *Anaesthesist.* – 2009. – Vol. 58, N 8. – P. 805–812.
688. Mayer B., Beretta M. The enigma of nitroglycerin bioactivation and nitrate tolerance: news, views and troubles // *British Journal of Pharmacology.* – 2008. – Vol. 155. – P. 170–184.
689. Mayr J.A. [et al.]. Mitochondrial ATP synthase deficiency due to a mutation in the ATP5E gene for the F1 epsilon subunit // *Hum. Mol. Genet.* – 2010. – Vol. 19, N 17. – P. 3430–3439.
690. McAllister R.M., Sean C.N., Laughlin M.H. Vascular nitric oxide: effects of exercise training in animals // *Appl Physiol Nutr Metab.* – 2008. – Vol. 33, N 1. – P. 173–178.

691. McCord J.M., Fridovich I. Superoxide Dismutase: An Enzymic Function for Erythrocyte (Hemocytin) // *Journal of Biological Chemistry*. – 1969. – Vol. 244, N 22. – P. 6049–6055.
692. McDonald L.J., Moss J. Pleiotropic effects of nitric oxide on ADP-ribosylation, covalent binding of NAD, and catalytic activity of glyceraldehyde-3-phosphate and aldehyde dehydrogenases // *Trans. Assoc. Am. Physicians*. – 1993. – Vol. 106. – P. 155–161.
693. McKenzie M., Lazarou M., Ryan M.T. Analysis of respiratory chain complex assembly with radiolabeled nuclear- and mitochondrial-encoded subunits // *Methods Enzymol*. – 2009. – Vol. 456. – P. 321–339.
694. Mehta AD, Seidler NW. Beta-alanine suppresses heat inactivation of lactate dehydrogenase // *J Enzyme Inhib Med Chem*. – 2005. – Vol. 20, N 2. – P. 199–203.
695. Mendonça Machado N., Gragnani A., Masako Ferreira L. Burns, metabolism and nutritional requirements // *Nutr. Hosp*. – 2011. – Vol. 26, N 4. – P. 692–700.
696. Merz U. [et al.]. Combination therapy of high frequency oscillatory ventilation, NO inhalation and surfactant replacement in a child with acute respiratory distress syndrome // *Klin Padiatr*. – 1999. – Vol. 211, N 2. – P. 83–85.
697. Messiha F.S. Effect of almond and anis oils on mouse liver alcohol dehydrogenase, aldehyde dehydrogenase and heart lactate dehydrogenase isoenzymes // *Toxicol Lett*. – 1990. – Vol. 54, N 2–3. – P. 183–188.
698. Mihara M., Uchiyama M., Fukuzawa K. Thiobarbituric acid value on fresh homogenate of rat as a parameter of lipid peroxidation in aging, CCl<sub>4</sub> intoxication, and vitamin E deficiency // *Biochem Med*. – 1980. – Vol. 23, N 3. – P. 302–311.
699. Miller M., Megson I.L. Recent developments in nitric oxide donor drugs // *Br. J. Pharmacol*. – 2007. – Vol. 151. – P. 305–321.
700. Millonig G. Advantages of phosphate buffer for OsO<sub>4</sub> solution in fixation // *J. Appl. Physics*. – 1961. – Vol. 32, N 8. – P. 1637.

701. Mishra V. [et al.]. Markers of oxidative damage, antioxidant status and clinical outcome in critically ill patients // *Ann. Clin. Biochem.* – 2005. – Vol. 42, N 4. – P. 269–276.
702. Mittal M. [et al.]. The thiocarbamate disulphide drug, disulfiram induces osteopenia in rats by inhibition of osteoblast function due to suppression of acetaldehyde dehydrogenase activity // *Toxicol Sci.* – 2014. – Vol. 139, N 1. – P. 257–270.
703. Miura T. [et al.]. Vasodilatory effect of nitroglycerin in Japanese subjects with different aldehyde dehydrogenase 2 (ALDH2) genotypes // *Chem Biol Interact.* – 2017. – Vol. 17. – P. 30319–30328.
704. Miyoshi H., Inata Y., Takeuchi M. Distinguishing the Effects of Inhaled Nitric Oxide and Lung Recruitment in Pediatric Acute Respiratory Distress Syndrome: Scope for Further Improvement // *Pediatr Crit Care Med.* – 2018. – Vol. 19, N 5. – P. 505.
705. Moa S., Himo F. Quantum chemical study of mechanism and stereoselectivity of secondary alcohol dehydrogenase. // *J Inorg Biochem.* – 2017. – Vol. 175. – P. 259–266.
706. Mogosanu G.D., Grumezescu A.M. Natural and synthetic polymers for wounds and burns dressing // *Int J Pharm.* – 2014. – Vol. 463, N 2. – P. 127–136.
707. Mokh V.P. [et al.]. On the nature of a compound formed from dinitrosyl-iron complexes with cysteine and responsible for a long-lasting vasorelaxation // *Nitric Oxide.* – 2010. – Vol. 22, N 4. – P. 266–274.
708. Mokline A. [et al.]. Lactate: prognostic biomarker in severely burned patients // *Annals of Burns and Fire Disasters.* – 2017. – Vol. 30, N 1. – P. 35–38.
709. Moon K.-H. [et al.]. Oxidative Inactivation of Key Mitochondrial Proteins Leads to Dysfunction and Injury in Hepatic Ischemia Reperfusion // *Gastroenterology.* – 2008. – Vol. 135, N 4. – P. 1344–1357.
710. Moon K.-H., Kim B.-Jo, Song B.J. Inhibition of mitochondrial aldehyde dehydrogenase by nitric oxide-mediated S-nitrosylation // *FEBS Lett.* – 2005. – Vol. 579, N 27. – P. 6115–6120.

711. Moreno-Sa´nchez R. [et al.]. Energy metabolism in tumor cells // FEBS J. – 2007. – Vol. 274. – P. 1393–1418.
712. Moreno-Sánchez R. [et al.]. Reactive oxygen species are generated by the respiratory complex II--evidence for lack of contribution of the reverse electron flow in complex I // FEBS J. – 2013. – Vol. 280, N 3. – P. 927–938.
713. Motoyama T. [et al.]. Possible role of increase oxidant stress in multiple organ failure after systemic inflammatory response syndrome // Crit. Care Med. – 2003. – Vol. 311048. – P. 1052.
714. Muller F. L. [et al.]. Absence of Cu-Zn superoxide dismutase leads to elevated oxidative stress and acceleration of age-dependent skeletal muscle atrophy // Free Radical Biology and Medicine. – 2006. – Vol. 40. – P. 193–204.
715. Muller F.L. [et al.]. High rates of superoxide production in skeletal-muscle mitochondria respiring on both complex I- and complex II-linked substrates // Biochem. J. – 2008. – Vol. 409, N 2. – P. 491–499.
716. Murrant C.L., Reid M.B. Detection of reactive oxygen and reactive nitrogen species in skeletal muscle // Microsc Res Tech. – 2001. – Vol. 55, N 4. – P. 236–248.
717. Mutschler J., Kiefer F. Mechanism of action of disulfiram and treatment optimization in prevention of recurrent alcoholism // Praxis. – 2013. – Vol. 102, N 3. – P. 139–146.
718. Muzio G. [et al.]. Aldehyde dehydrogenases and cell proliferation // Free Radic Biol Med. – 2012. – Vol. 52, N 4. – P. 735–746.
719. Nadiezhda C.M., Kelley E.E. Xanthine oxidoreductase-catalyzed reduction of nitrite to nitric oxide: Insights regarding where, when and how // Biological Chemistry and Therapeutic Applications of Nitric Oxide. – 2013. – Vol. 34, N 1. – P. 19–26.
720. Nadif R. [et al.]. Association of CAT polymorphisms with catalase activity and exposure to environmental oxidative stimuli // Free Radic Res. – 2005. – Vol. 39. – P. 1345–1350.

721. Nagle D.G., Zhou Yu-Dong. Natural Product-Derived Small Molecule Activators of Hypoxia-Inducible Factor-1 (HIF-1) // *Current Pharmaceutical Design*. – 2006. – Vol.12, N 21. – P. 2673–2688.
722. Nakatake R. [et al.]. Glutathione inhibits expression of the proinflammatory biomarker inducible nitric oxide synthase in hepatocytes // *Functional Foods in Health and Disease*. – 2018. – Vol. 12, N 8. – P. 544–560.
723. Nematollahi S. [et al.]. Inducible nitric oxide synthase modulates angiogenesis in ischemic hindlimb of rat // *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* – 2009. – Vol. 153, N 2. – P. 125–130.
724. Neubauer R. [et al.]. Aldehyde dehydrogenase-independent bioactivation of nitroglycerin in porcine and bovine blood vessels // *Biochemical Pharmacology*. – 2015. – Vol. 93. – P. 440–448.
725. Ni L. [et al.]. Human liver mitochondrial aldehyde dehydrogenase: three-dimensional structure and the restoration of solubility and activity of chimeric forms // *Protein Sci.* – 1999. – Vol. 8, N 12. – P. 2784–2790.
726. Nicolau E. [et al.]. Bioelectrochemistry of non-covalent immobilized alcohol dehydrogenase on oxidized diamond nanoparticles // *Bioelectrochemistry*. – 2012. – Vol. 85. – P. 1–6.
727. Nitric Oxide. Basic Research and Clinical Application / R.J. Gryglewsky, P. Minuz eds. Amsterdam, Washington: IOS Press, – 2001. 235p.
728. Nomura T. [et al.]. Aldehyde dehydrogenase 2 and glutathione S-transferase M1 polymorphisms in relation to the risk for oral cancer in Japanese drinkers // *Oral Oncol.* – 2000. – Vol. 36, N 1. – P. 42–46.
729. Nomura F. [et al.]. Biological markers of alcoholism with respect to genotypes of low-Km aldehyde dehydrogenase (ALDH2) in Japanese subjects // *Alcohol Clin Exp Res.* – 2000. – Vol. 24, N 4. – P. 303–333.
730. Nonas S. [et al.]. Oxidized phospholipids reduce vascular leak and inflammation in rat model of acute lung injury // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2006. – Vol. 173, N 10. – P. 1130–1138.

731. Nozik-Grayck E., Suliman H.B., Piantadosi C.A. Extracellular superoxide dismutase // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* – 2005. – Vol. 37, N. 12. – P. 2466–2471.
732. Nystrom T. Role of oxidative carbonylation in protein quality control and senescence // *The EMBO Journal.* – 2005. – Vol. 24. – P. 1311–1317.
733. Ogunbileje J.O. [et al.]. Hypermetabolism and hypercatabolism of skeletal muscle accompany mitochondrial stress following severe burn trauma // *Am J Physiol Endocrinol Metab.* – 2016. – Vol. 311, N 2. – P. E436–448.
734. Ogura H. [et al.]. The effect of inhaled nitric oxide on smoke inhalation injury in an ovine model // *J Trauma.* – 1994. – Vol. 37. N 2. – P. 294–301.
735. Ohta S. Roles of mitochondrial dysfunctions in Alzheimers disease- contribution of deficiency of ALDH2 // *Rinsho Shinkeigaku.* – 2000. – Vol. 40, N 12. – P. 1231–1233.
736. Okado-Matsumoto A., Fridovich I. Subcellular distribution of superoxide dismutases (SOD) in rat liver: Cu, Zn-SOD in mitochondria // *J. Biol. Chem.* – 2001. – Vol. 276, N 42. – P. 38388–38393.
737. Oliveira C.S. [et al.]. Major determinants of photoinduced cell death: Subcellular localization versus photosensitization efficiency // *Free Radic. Biol. Med.* – 2011. – Vol. 51, N 4. – P. 824–833.
738. Ortega A.L., Mena S., Estrela J.M. Oxidative and nitrosative stress in the metastatic microenvironment // *Cancers (Basel).* – 2010. – Vol. 2, N 2. – P. 274–304.
739. Ortiz P.A., Garvin J.L. Role of nitric oxide in the regulation of nephron transport // *Am. J. Physiol Renal Physiol.* – 2002. – Vol. 282. – P. 777–784.
740. Orywal K. [et al.]. The Diagnostic Significance of Serum Alcohol Dehydrogenase Isoenzymes and Aldehyde Dehydrogenase Activity in Prostate Cancer Patients // *Anticancer Res.* – 2017. – Vol. 37, N 9. – P. 4961–4965.
741. Orywal K. [et al.]. The activity of class I, II, III and IV alcohol dehydrogenase isoenzymes and aldehyde dehydrogenase in the sera of bladder cancer patient // *Acta Biochim Pol.* – 2017. – Vol. 64, N 1. – P. 81–84.

742. Östberg L.J., Persson B., Höög J.O. Computational studies of human class V alcohol dehydrogenase – the odd sibling // *BMC Biochemistry*. – 2016. – Vol. 17, N 1. – P. 16.
743. Ozyamak E. [et al.]. The critical role of S-lactoylglutathione formation during methylglyoxal detoxification in *Escherichia coli* // *Mol Microbiol*. – 2010. – Vol. 78, N 6. – P. 1577–1590.
744. Pacher P., Beckman J.S., Liaudet L. Nitric Oxide and Peroxynitrite in Health and Disease // *Physiol Rev*. – 2007. – Vol. 87. – P. 315–424.
745. Pal S., Park D.H., Plapp B.V. Activity of yeast alcohol dehydrogenases on benzyl alcohols and benzaldehydes: characterization of ADH1 from *Saccharomyces carlsbergensis* and transition state analysis // *Chem Biol Interact*. – 2009. – Vol. 178, N 1–3. – P. 16–23.
746. Parihar A. [et al.]. Oxidative stress and anti-oxidative mobilization in burn injury // *Burns*. – 2008. – Vol. 34. – P. 6–17.
747. Parihar M.S. [et al.]. Association of mitochondrial nitric oxide synthase activity with respiratory chain complex I // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 2007. – Vol. 366, N 1. – P. 23–28.
748. Parihar M.S. [et al.]. Inactivation of mitochondrial respiratory chain complex I leads mitochondrial nitric oxide synthase to become pro-oxidative // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 2008. – Vol. 367, N 4. – P. 761–767.
749. Park K.S. [et al.]. Proteomic alterations of the variants of human aldehyde dehydrogenase isozymes correlate with hepatocellular carcinoma // *Int J Cancer*. – 2002. – Vol. 97, N 32. – P. 261–265.
750. Pasdois P. [et al.]. The role of oxidized cytochrome c in regulating mitochondrial reactive oxygen species production and its perturbation in ischaemia // *Biochem. J*. – 2011. – Vol. 436. – P. 493–505.
751. Pavshintsev V.V. [et al.]. Individual roles of brain and serum alcohol dehydrogenase isoforms in regulation of alcohol consumption in SPF Wistar rats // *Physiol Behav*. – 2017. – Vol. 179. – P. 458–466.

752. Peng D.Q. [et al.]. Effect of alcohol dehydrogenase 1C (ADH1C) genotype on vitamin A restriction and marbling in Korean native steers // *Asian-Australas J Anim Sci.* – 2017. – Vol. 30, N 8. – P. 1099–1104.
753. Peralta S., Wang X., Morales C.T. Mitochondrial transcription: lessons from mouse models // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2012. – Vol. 1819, N 9–10. – P. 961–969.
754. Petersen S.V. [et al.] The dual nature of human extracellular superoxide dismutase: one sequence and two structures // *Proc. Natl. Acad. Sci.* – 2003. – Vol. 100, N 24. – P. 13875–13880.
755. Petit P.C. [et al.]. The Pathophysiology of Nitrogen Dioxide During Inhaled Nitric Oxide Therapy // *ASAIO J.* – 2017. – Vol. 63, N 1. – P. 7–13.
756. Piantadosi C.A., Tatro L.G., Whorton A.R. Nitric oxide and differential effects of ATP on mitochondrial permeability transition // *Nitric Oxide.* – 2002. – Vol. 6, N 1. – P. 45–60.
757. Pierini D., Bryan N.S. Nitric oxide availability as a marker of oxidative stress // *Methods Mol. Biol.* – 2015. – Vol. 1208. – P. 63–71.
758. Pierron D. [et al.]. Cytochrome c oxidase: Evolution of control via nuclear subunit addition // *Biochimica et Biophysica Acta – Bioenergetics.* – 2012. – Vol. 1817, N 4. – P. 590–597.
759. Plapp B.V. Conformational Changes and Catalysis by Alcohol Dehydrogenase // *Arch Biochem Biophys.* – 2010. – Vol. 493, N 1. – P. 3–12.
760. Plapp B.V. [et al.]. Contribution of liver alcohol dehydrogenase to metabolism of alcohols in rats // *Chem Biol Interact.* – 2015. – Vol. 234. – P. 85–95.
761. Plapp B.V. [et al.]. Horse Liver Alcohol Dehydrogenase: Zinc Coordination and Catalysis // *Biochemistry.* – 2017. – Vol. 56. – P. 3632–3646.
762. Plotnikoff N.P. [et al.]. *Cytokines: Stress and Immunity.* Boca Raton: CRC Press, – 2006. – 2nd Edition. – 405 p.

763. Poole C.R., Halestrap P.A. Purification of aldehyde dehydrogenase by  $\alpha$ -cyanocinnamate affinity chromatography // *Biochem. J.* – 1989. – Vol. 295. – P. 105–110.
764. Porasuphatana S., Weaver J., Rosen G.M. Inducible nitric oxide synthetase catalyses ethanol oxidation to alpha-hydroxyethyl radical and acetaldehyde // *Toxicology.* – 2006. – Vol. 323. – P. 167–174.
765. Porter C. [et al.]. The metabolic stress response to burn trauma: current understanding and therapies // *Lancet.* – 2016. – Vol. 388. – P. 1417–1426.
766. Porter C. [et al.]. Long-Term Skeletal Muscle Mitochondrial Dysfunction is Associated with Hypermetabolism in Severely Burned Children // *J Burn Care Res.* – 2016. – Vol. 37, N 1. – P. 53–63.
767. Porter C. [et al.]. Differential acute and chronic effects of burn trauma on murine skeletal muscle bioenergetics // *Burns.* – 2016. – Vol. 42, N 1. – P. 112–122.
768. Powell C.S., Jackson R.M. Mitochondrial Complex I, aconitase and succinate dehydrogenase during hypoxia-reoxygenation: Modulation of enzyme activities by MnSOD // *Am J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* – 2003. – Vol. 285. – P. 189–198.
769. Qi S., Sun W. The effects of inhaled nitric oxide on cardiac pathology and energy metabolism in a canine model of smoke inhalation injury // *Burns.* – 2004. – Vol. 30, N 1. – P. 65–71.
770. Qin Z. [et al.] Extracellular superoxide dismutase (ecSOD) in vascular biology: an update on exogenous gene transfer and endogenous regulators of ecSOD // *Transl. Res.* – 2008. – Vol. 151, N 2. – P. 68–78.
771. Quinlan C.L. [et al.]. Mitochondrial complex II can generate reactive oxygen species at high rates in both the forward and reverse reactions // *J. Biol. Chem.* – 2012. – Vol. 287, N 32. – P. 27255–27264.
772. Rabbani N., Thornalley P.J. Glycation research in amino acids: a place to call home // *Amino Acids.* – 2012. – Vol. 42, N 4. – P. 1087–1096.

773. Radak Z. [et al.]. Oxygen consumption and usage during physical exercise: the balance between oxidative stress and NOS-dependent adaptive signalling // *Antioxid. Redox Signal.* – 2013. – Vol. 18, N 10. – P. 1208–1246.
774. Rael L.T. [et al.]. Oxidation-reduction potential and paraoxonase-arylesterase activity in trauma patients // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2007. – Vol. 361, N 2. – P. 561–565.
775. Rael L.T. [et al.]. Injury severity and serum amyloid A correlate with plasma oxidation-reduction potential in multi-trauma patients: a retrospective analysis // *Scand. J. Trauma Resusc. Emerg. Med.* – 2009. – Vol. 17. – URL: <http://www.sjtrem.com/content/pdf/1757-7241-17-57.pdf>
776. Ragas X. [et al.]. Singlet Oxygen in Antimicrobial Photodynamic Therapy: Photosensitizer-Dependent Production and Decay in E.coli // *Molecules.* – 2013. – Vol. 18, N 3. – P. 2712–2725.
777. Rahal A. [et al.]. Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay // *BioMed research international.* – 2014. – Vol. 2014. – P. 761264.
778. Raj D.S.C. [et al.]. Hemodynamic changes during hemodialysis: role of nitric oxide and endothelin // *Kidney International.* – 2002. – Vol. 61. P. 697–704.
779. Ralph S.J. [et al.]. Inhibitors of succinate: quinone reductase/complex II regulate production of mitochondrial reactive oxygen species and protect normal cells from ischemic damage but induce specific cancer cell death // *Pharm. Res.* – 2011. – Vol. 28. – P. 2695–2730.
780. Rani R., Kumar V. Recent Update on Human Lactate Dehydrogenase Enzyme 5 (hLDH5) Inhibitors: A Promising Approach for Cancer Chemotherapy // *J Med Chem.* – 2016. – Vol. 59, N 2. – P. 487–496.
781. Rauter M. [et al.]. Aadh2p: an *Arxula adenivorans* alcohol dehydrogenase involved in the first step of the 1-butanol degradation pathway // *Microb Cell Fact.* – 2016. – Vol. 15, N 1. – P. 175.
782. Reichard J.F., Vasiliou V., Petersen D.R. Characterization of 4-hydroxy-2-nonenal metabolism in stellate cell lines derived from normal and cirrhotic rat liver // *Biochim Biophys Acta.* – 2000. – Vol. 1487, N 2–3. – P. 222–232.

783. Reynolds E.S. The use of lead citrate at high pH as an electron microscope // *J. Cell. Biol.* – 1963. – Vol. 17, N 2. – P. 208–210.
784. Richards T.A., Archibald J.M. Cell evolution: gene transfer agents and the origin of mitochondria // *Curr. Biol.* – 2011. – Vol. 21, N 3. – P. 112–114.
785. Riethmuller M., Burger N., Bauer G. Singlet oxygen treatment of tumor cells triggers extracellular singlet oxygen generation, catalase inactivation and reactivation of intercellular apoptosis-inducing signaling // *Redox Biol.* – 2015. – N 6. – P. 157–168.
786. Riveros-Rosas H., Julian-Sanches A., Pina E. Enzymology of ethanol and acetaldehyde metabolism in mammals // *Archives of medical research.* – 1997. – Vol. 28, N 4. – P. 453–471.
787. Rossaint R. [et al.]. Inhaled nitric oxide for the adult respiratory distress syndrome // *New Engl J Med.* – 1993. – Vol. 328, N 6. – P. 399–405.
788. Rus A., del Moral M.L., Molina F. Does inducible NOS have a protective role against hypoxia/reoxygenation injury in rat heart? // *Cardiovascular Pathology.* – 2011. – Vol. 20, N 1. – P. e17–e25.
789. Ruan S.-Y. [et al.]. Inhaled nitric oxide and the risk of renal dysfunction in patients with acute respiratory distress syndrome: a propensity-matched cohort study // *Ruan et al. Critical Care.* – 2016. – Vol. 20. – P. 389–397.
790. Sahoo R. [et al.]. A novel role of catalase in detoxification of peroxynitrite in *S. cerevisiae* // *Biochem Biophys Res Commun.* – 2009. – Vol. 385, N 4. – P. 507–511.
791. Saitoh D. [et al.]. Analysis of plasma nitrite/nitrate in human thermal injury // *Tohoku J. Exp. Med.* – 2001. – Vol. 194, N 2. – P. 129–136.
792. Sakiyama M. [et al.]. Independent effects of ADH1B and ALDH2 common dysfunctional variants on gout risk // *Sci Rep.* – 2017. – Vol. 7, N 1. – P. 2500.
793. Saleh J. Glycated hemoglobin and its spinoffs: Cardiovascular disease markers or risk factors? // *World J Cardiol.* – 2015. – Vol. 7, N 8. – P. 449–453.

794. Samosiuk I. [et al.]. Eco-physical factors based on short wave frequency and singlet-oxygen therapy // *Journal of health sciences*. – 2011. – Vol. 1, N. 3. – P. 137–146.
795. Saraf M.K. [et al.]. Morphological Changes in Subcutaneous White Adipose Tissue After Severe Burn Injury // *J Burn Care Res*. – 2016. – Vol. 37, N 2. – P. e96–103.
796. Sass J.O. [et al.]. 3-Hydroxyisobutyrate aciduria and mutations in the ALDH6A1 gene coding for methylmalonate semialdehyde dehydrogenase // *J Inherit Metab Dis*. – 2012. – Vol. 35, N 3. – P. 437–442.
797. Scarpulla R.C., Vega R.B., Kelly D.P. Transcriptional integration of mitochondrial biogenesis // *Trends Endocrinol. Metab*. – 2012. – Vol. 23, N 9. – P. 459–466.
798. Schindler J.F., Berst K.B., Plapp B.V. Inhibition of human alcohol dehydrogenase by formamides // *J. Med. Chem*. – 1998. – Vol. 41, N 10. – P. 1696–1701.
799. Schneider M.P. [et al.]. Collecting duct-derived endothelin regulates arterial pressure and Na excretion via nitric oxide // *Hypertension*. – 2008. – Vol. 51. – P. 1605–1610.
800. Schweitzer C., Schmidt R. Physical mechanisms of generation and deactivation of singlet oxygen // *Chem. Rev*. – 2003. – Vol. 103, N 5. – P. 1685–1757.
801. Schwitzguebel I.P., Siegenthaler P.A. Purification of Peroxisomes and Mitochondria from Spinach Leaf by Percoll Gradient Centrifugation // *American Society of Plant Biologists*. – 1984. – Vol. 75, N 75. – P. 670–674.
802. Sentman M. L. [et al.]. Phenotypes of mice lacking extracellular superoxide dismutase and copper- and zinc-containing superoxide dismutase // *Journal of Biological Chemistry*. – 2006. – Vol. 281. – P. 6904–6909.
803. Shacter E. Quantification and significance of protein oxidation in biological samples // *Drug Metab. Rev*. – 2000. – N 32. – P. 307–326.

804. Sharpe A.L., Carter D.E. Substrate specificity of rat liver aldehyde dehydrogenase with chloroacetaldehydes // *J. Biochem. Toxicol.* – 1993. – Vol. 18, N 3. – P. 155–160.
805. Shekhter A.B. [et al.]. Beneficial effect of gaseous nitric oxide on the healing of skin wounds // *Nitric oxide.* – 2005. – Vol. 12. – P. 210–219.
806. Sheridan R.L. [et al.]. Low-dose inhaled nitric oxide in acutely burned children with profound respiratory failure // *Surgery.* – 1999. – Vol. 126, N 5. – P. 856–62.
807. Sheridan R.L., Hess D. Inhaled nitric oxide in inhalation injury // *J Burn Care Res.* – 2009. – Vol. 30, N 1. – P. 162–164.
808. Shimazu T., Ogura H., Sugimoto H. Clinical and pathophysiologic problems associated with smoke inhalation injury // *Nihon Geka Gakkai Zasshi.* – 1998. – Vol. 99, N 1. – P. 46–51.
809. Sies H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine // *Redox Biol.* – 2015. – Vol. 4. – P.180–183.
810. Singh R. [et al.]. Advanced glycation end-products: a review // *Diabetologia.* – 2001. – Vol. 44, N 2. – P. 129–46.
811. Sjoberg F., Singer M. The medical use of oxygen: a time for critical reappraisal // *Journal of Internal Medicine.* – 2013. – Vol. 274. – P. 505–528.
812. Škrha J.Jr. [et al.]. Fructosamine 3-kinase and glyoxalase I polymorphisms and their association with soluble RAGE and adhesion molecules in diabetes // *Physiol Res.* – 2014. – Vol. 63, N 2. – P. 283–291.
813. Skrzycki M., Czeczot H. Extracellular superoxide dismutase (EC-SOD) – structure, properties and functions // *Postepy Hig. Med. Dosw.* –2004. –Vol. 58. – P. 301–311.
814. Sládek N. Human aldehyde dehydrogenases: potential pathological, pharmacological, and toxicological impact // *J. Biochem. Mol. Toxicol.* – 2003. – Vol. 17, N 7. – P. 7–23.

815. Snell G.I. [et al.]. Inhaled nitric oxide used as a bridge to heart-lung transplantation in a patient with end-stage pulmonary hypertension // *Am J Respir Crit Care Med.* – 1995. – Vol. 151, N 4. – P. 1263–1266.
816. Sokolowska M., Wlodek L. Influence of N-acetylcysteine on bioactivation of nitroglycerin to nitric oxide and S-nitrosothiols in the liver and brain of mice // *Polish Journal of Pharmacology.* – 2003. – Vol. 55. – P. 401–408.
817. Sophos N., Vasiliou V. Aldehyde dehydrogenase gene superfamily: the 2002 update // *Chem. Biol. Interact.* – 2003. – Vol. 1. – P. 5–22.
818. Soppa J. Protein acetylation in archaea, bacteria, and eukaryotes // *Archaea.* – 2010. – Vol. 2010. – P. 1–9.
819. Sotoa I.C. [et al.]. Biogenesis and assembly of eukaryotic cytochrome c oxidase catalytic core // *Biophysica Acta – Bioenergetics.* – 2012. – Vol. 1817, N 6. – P. 883–897.
820. Sozumi T. The role of nitric oxide in vascular permeability after thermal injury // *Ann. Plast. Surg.* – 1997. – Vol. 39, N 3. – P. 272–277.
821. Spolarics Z. [et al.]. Increased incidence of sepsis and altered monocyte functions in severely injured type A-glucose-6-phosphate dehydrogenase-deficient African American trauma patients // *Crit. Care Med.* – 2001. – Vol. 29. – P. 728–736.
822. Stefano J.T. [et al.]. S-Nitroso-N-acetylcysteine induces de-differentiation of activated hepatic stellate cells and promotes antifibrotic effects in vitro // *Nitric Oxide.* – 2011. – Vol. 25. – P. 360–365.
823. Storme L. [et al.]. Inhaled nitric oxide neither alters oxidative stress parameters nor induces lung inflammation in premature lambs with moderate hyaline membrane disease // *Biol Neonate.* – 1998. – Vol. 73, N 3. – P. 172–181.
824. Sukhodolets M.V., Muronetz V.I., Nagradova N.K. Interaction between glyceraldehyde-3-phosphate-dehydrogenase and lactate dehydrogenase // *Biochem Int.* – 1989. – Vol. 19, N 2. – P. 379–384.
825. Sun F. [et al.]. Crystal structure of mitochondrial respiratory membrane protein complex II // *Cell.* – 2005. – Vol. 121. – P. 1043–1057.

826. Szabó C. [et al.]. The mechanism of the inhibitory effect of polyamines on the induction of nitric oxide synthase: role of aldehyde metabolites // *Br. J. Pharmacol.* – 1994. – Vol. 113, N 3. – P. 757–766.
827. Szwergold B.S. Intrinsic toxicity of glucose, due to non-enzymatic glycation, is controlled in-vivo by deglycation systems including: FN3K-mediated deglycation of fructosamines and transglycation of aldosesamines // *Med Hypotheses.* – 2005. – Vol. 65, N 2. – P. 337–348.
828. Tang L., Wang H., Ziolo M.T. Targeting NOS as a therapeutic approach for heart failure // *Pharmacology & Therapeutics.* – 2014. – Vol. 142, N 3. – P. 306–315.
829. Tarpy S.P., Celli B.R. Long-term oxygen therapy // *Engl J Med.* – 1995. – Vol. 333, N 11. – P. 710–714.
830. Tasoulis M.K. [et al.]. High concentrations of reactive oxygen species in the BAL fluid are correlated with lung injury in rabbits after hemorrhagic shock and resuscitation // *Tohoku J Exp Med.* – 2009. – Vol. 219. – P. 193–199.
831. Taylor C.T., Moncada S. Nitric oxide, cytochrome C oxidase, and the cellular response to hypoxia // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.* – 2010. – Vol. 30, N 4. – P. 643–647.
832. Terpolilli N.A. [et al.]. Inhaled nitric oxide reduces secondary brain damage after traumatic brain injury in mice // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* – 2013. – Vol. 33, N 2. – P. 311–318.
833. Thomas D.D. [et al.]. The chemical biology of nitric oxide: implications in cellular signaling // *Free Radic Biol Med.* – 2008. – Vol. 45, N 1. – P. 18–31.
834. Thomasson H.R., Beard J.D., Li T.K. ADH2 gene polymorphisms are determinants of alcohol pharmacokinetics // *Alcohol Clin Exp Res.* – 1995. – Vol. 19, N 6. – P. 1494–1499.
835. Thomazzi S.M. [et al.]. Role of cyclic GMP on inhibition by nitric oxide donors of human eosinophil chemotaxis in vitro // *British Journal of Pharmacology.* – 2004. – Vol. 141. – P. 653–660.

836. Thornalley P.J. Dicarbonyl intermediates in the maillard reaction // *Ann N Y Acad Sci.* – 2005. – Vol. 1043. – P. 111–117.
837. Thornalley P.J. Protein and nucleotide damage by glyoxal and methylglyoxal in physiological systems – role in ageing and disease // *Drug Metabol Drug Interact.* – 2008. – Vol. 23, N 1–2. – P. 125–150.
838. Timoshin A.A. [et al.]. Estimation of nitric oxide level in vivo by microdialysis with water-soluble iron-N-methyl-D-dithiocarbamate complexes as NO traps: a novel approach to nitric oxide spin trapping in animal tissues // *Nitric Oxide.* – 2008. – Vol. 19, N 4. – P. 338–344.
839. Tomomi G., Masataka M. Nitric oxide and endoplasmic reticulum stress // *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology.* – 2006. – Vol. 26. – P. 1439.
840. Townsend A.J. [et al.]. Selective protection by stably transfected human ALDH3A1 (but not human ALDH1A1) against toxicity of aliphatic aldehydes in V79 cells // *Chem Biol Interact.* – 2001. – Vol. 130–132, N 1–3. – P. 261–273.
841. Treberg J.R., Quinlan C.L., Brand M.D. Evidence for two sites of superoxide production by mitochondrial NADH-ubiquinone oxidoreductase (complex I) // *J. Biol. Chem.* – 2011. – Vol. 286, N 31. – P. 27103–27110.
842. Trivedi A. [et al.]. Optimization of adsorptive immobilization of alcohol dehydrogenases // *J Biosci Bioeng.* – 2005. – Vol. 99, N 4. – P. 340–347.
843. Trupkovic T., Giessler G. Burn trauma. Part 1: pathophysiology, preclinical care and emergency room management // *Anaesthesist.* – 2008. – Vol. 57, N 9. – P. 898–907.
844. Tsai H.J. [et al.]. Effects of arginine supplementation on antioxidant enzyme activity and macrophage response in burned mice // *Burns.* – 2002. – Vol. 28, N 3. – P. 258–263.
845. Tsai Y.-C., Chen S.-Y., Liaw H.-W. Immobilization of lactate dehydrogenase within multiwalled carbon nanotube-chitosan nanocomposite for application to lactate biosensors // *Sensors and Actuators B: Chemical.* – 2007. – Vol. 2. – P. 474–481.
846. Tschakovsky M.E., Joyner M.J. Nitric oxide and muscle blood flow in

- exercise // *Appl Physiol Nutr Metab.* – 2008. – Vol. 33, N 1. – P. 151–160.
847. Tsou P.-S. [et al.]. Differential Metabolism of Organic Nitrates by Aldehyde Dehydrogenase 1a1 and 2: Substrate Selectivity, Enzyme Inactivation, and Active Cysteine Sites // *The AAPS Journal.* – 2011. – Vol. 13, N 4. – P. 548–555.
848. Turrens J.F. Mitochondrial formation of reactive oxygen species // *J. Physiol.* – 2003. – Vol. 552, N 2. – P. 335–344.
849. Vallari R.C., Pietruszko R. Interaction of Mg<sup>2+</sup> with Human Liver Aldehyde Dehydrogenase. I. Species difference in the mitochondrial isozyme // *The Journal of Biological Chemistry.* – 1984. – Vol. 259, N 8. – P. 4922–4926.
850. Vallari R.C., Pietruszko R. Interaction of Mg<sup>2+</sup> with human liver aldehyde dehydrogenase. II. Mechanism and site of interaction // *J Biol Chem.* – 1984. – Vol. 259, N 8. – P. 4927–4933.
851. Van den Berg M.P., Meurs H., Gosens R. Targeting arginase and nitric oxide metabolism in chronic airway diseases and their co-morbidities // *Curr Opin Pharmacol.* – 2018. – Vol. 40. – P. 126–133.
852. Van der Blik A.M., Shen Q., Kawajiri S. Mechanisms of mitochondrial fission and fusion // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* – 2013. – Vol. 5, N 6. – P. 1–16.
853. Van Schaik J.W. [et al.]. EXAFS study on the reactions between iron and fulvic acid in acid aqueous solutions // *Environ Sci Technol.* – 2008. – Vol. 42, N 7. – P. 2367–2373.
854. Vander Jagt D.L., Hunsaker L.A. Methylglyoxal metabolism and diabetic complications: roles of aldose reductase, glyoxalase-I, betaine aldehyde dehydrogenase and 2-oxoaldehyde dehydrogenase // *Chem Biol Interact.* – 2003. – Vol. 143–144. – P. 341–351.
855. Vander Vliet A. [et al.]. Formation of reactive nitrogen species during peroxidase-catalyzed oxidation of nitrite. A potential additional mechanism of nitric oxide-dependent toxicity // *J. Biol. Chem.* – 1997. – Vol. 272. – P. 7617–7625.

856. Vanhoutte P.M. Nitric Oxide: From Good to Bad // *Ann Vasc Dis.* – 2018. – Vol. 11, N 1. – P. 41–51.
857. Vanin A.F. Dinitrosyl-iron complexes with thiolate ligands: physico-chemistry, biochemistry and physiology // *Nitric Oxide Biol. Chem.* – 2009. – Vol. 21. – P. 136–149.
858. Vanin A.F., Chazov E.I. Prospects of designing medicines with diverse therapeutic activity on the basis of dinitrosyl iron complexes with thiol-containing ligands // *Biophysics.* – 2011. – Vol. 56, N 2. – P. 268–275.
859. Vanin A.F. Dinitrosyl iron complexes with thiol-containing ligands as a “working form” of endogenous nitric oxide // *Nitric Oxide.* – 2016. – Vol. 54. – P. 15–29.
860. Varga M.J., Dzierlenga M.W., Schwartz S.D. Structurally Linked Dynamics in Lactate Dehydrogenases of Evolutionarily Distinct Species // *Biochemistry.* – 2017. – Vol. 56, N 19. – P. 2488–2496.
861. Vasiliou V., Pappa A., Petersen D.R. Role of aldehyde dehydrogenases in endogenous and xenobiotic metabolism // *Chem Biol Interact.* – 2000. – Vol. 129, N 1–2. – P. 1–19.
862. Vasiliou V., Nebert D. Analysis and update of the human aldehyde dehydrogenase (ALDH) gene family // *Hum Genomics.* – 2005. – Vol. 2, N 2. – P. 138–143.
863. Villanueva C., Giulivi C. Subcellular and cellular locations of nitric-oxide synthase isoforms as determinants of health and disease // *Free Radical Biology and Medicine.* – 2010. – Vol. 49, N 3. – P. 307–316.
864. Vogel R.O., Smeitink J.A., Nijtmans L.G. Human mitochondrial complex I assembly: a dynamic and versatile process // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2007. – Vol. 1767, N 10. – P. 1215–1227.
865. Walia M. [et al.]. Peroxynitrite and nitric oxide differ in their effects on pig coronary artery smooth muscle // *Am J Physiol Cell Physiol.* – 2003. – Vol. 284. – P. C649–C657.

866. Walters D.M., Cho H.Y., Kleeberger S.R. Oxidative stress and antioxidants in the pathogenesis of pulmonary fibrosis: a potential role for Nrf2 // *Antioxidants & redox signaling*. – 2008. – Vol. 10, N 2. – P. 321–332.
867. Wei C.L. [et al.]. Temporal expression of hepatic inducible nitric oxide synthase in liver cirrhosis // *World J. Gastroenterol.* – 2005. – Vol. 11, N 3. – P. 362–367.
868. Weidinger A., Kozlov A.V. Biological Activities of Reactive Oxygen and Nitrogen Species: Oxidative Stress versus Signal Transduction // *Biomolecules*. – 2015. – N 5. – P. 472–484.
869. Wenzel P. [et al.]. Manganese superoxide dismutase and aldehyde dehydrogenase deficiency increase mitochondrial oxidative stress and aggravate age-dependent vascular dysfunction // *Cardiovascular Research*. – 2008. – Vol. 80. – P. 280–289.
870. Wenzl V.M. [et al.]. Site-directed mutagenesis of aldehyde dehydrogenase-2 suggests three distinct pathways of nitroglycerin biotransformation // *Molec. Pharm.* – 2011. – Vol. 80, N 2. – P. 258–266.
871. Weston M.A., Patterson M.S. Monitoring oxygen concentration during photodynamic therapy using prompt photosensitizer fluorescence // *Phys. Med. Biol.* – 2013. – Vol. 58, N 20. – P. 7039–7059.
872. Wheaton W., Chandel N. Hypoxia regulates cellular metabolism // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* – 2011. – Vol. 300, N 3. – P. 385–393.
873. Wigginton K.R. [et al.]. Oxidation of Virus Proteins during UV254 and Singlet Oxygen Mediated Inactivation // *Environ. Sci. Technol.* – 2010. – Vol. 44, N 14. – P. 5437–5443.
874. Wikström M. Active site intermediates in the reduction of O<sub>2</sub> by cytochrome oxidase, and their derivatives // *Biochimica et Biophysica Acta – Bioenergetics*. – 2012. – Vol. 1817, N 4. – P. 468–475.
875. Wojciech J., Grochowska-Skiba B., Szmitkowski M. Alcohol dehydrogenase and the metabolism of ethanol in the brain // *Postepy Hig Med Dosw.* – 2007. – Vol. 61. – P. 226–230.

876. Xiao T. [et al.]. Molecular cloning and oxidative modification of human lens ALDH1A1: implication in impaired detoxification of lipid aldehydes // *J Toxicol Environ Health A*. – 2009. – Vol. 72, N 9. – P. 577–584.
877. Xu F. [et al.]. The Glu504Lys Polymorphism of Aldehyde Dehydrogenase 2 Contributes to Development of Coronary Artery Disease // *Tohoku J. Exp. Med.* – 2014. – Vol. 234. – P. 143–150.
878. Yang S. [et al.]. Mitochondrial respiratory function and antioxidant capacity in normal and cirrhotic livers following partial hepatectomy // *Cell Mol Life Sci.* – 2004. – Vol. 61, N 2. – P. :220–229.
879. Yeh D.Y. [et al.]. Increased nitric oxide production accompanies blunted hypoxic pulmonary vasoconstriction in hyperoxic rat lung // *Chin J Physiol.* – 2006. – Vol. 49, N 6. – P. 305–312.
880. Yin H., Xu L., Porter N.A. Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis // *Chem. Rev.* – 2011. – Vol. 111, N 10. – P. 5944–5972.
881. Yokoyama A. [et al.]. Recovery from anemia and leukocytopenia after abstinence in Japanese alcoholic men and their genetic polymorphisms of alcohol dehydrogenase-1B and aldehyde dehydrogenase-2 // *Jpn J Clin Oncol.* – 2017. – Vol. 47, N 4. – P. 306–312.
882. Yonehara N., Yoshimura M. Interaction between nitric oxide and substance P on heat-induced inflammation in rat paw // *Neurosci. Res.* – 2000. – Vol. 36, N 1. – P. 35–43.
883. Yoshida A. [et al.]. Human aldehyde dehydrogenase gene family // *Eur. J. Biochem.* – 1998. – Vol. 251, N 3. – P. 549–557.
884. Yoshikawa S., Shimada A. Reaction Mechanism of Cytochrome c Oxidase // *Chem. Rev.* – 2015. – Vol. 115, N 4. – P. 1936–1989.
885. Yu Y.M. [et al.]. Plasma arginine and leucine kinetics and urea production rates in burn patients // *Metabolism.* – 1995. – Vol. 44, N 6. – P. 659–666.
886. Zagorska A., Dulak J. HIF-1: knowns and unknowns of hypoxia sensing // *Acta Biochimica Polonica.* – 2004. – Vol. 51, N 3. – P. 563–585.

887. Zakhari S. Overview: how is alcohol metabolized by the body // *Alcohol Res. Health.* – 2006. – Vol. 29, N 4. – P. 245–254.
888. Zamora R., Vodovotz V., Billiar T.R. Inducible nitric oxide synthase and inflammatory diseases // *Molec. Med.* – 2000. – Vol. 6, N 5. – P. 347–373.
889. Zarkovic N. [et al.]. Pathophysiological relevance of aldehydic protein modifications // *J Proteomics.* – 2013. – Vol. 92. – P. 239–247.
890. Zee J.M., Glerum D.M. Defects in cytochrome oxidase assembly in humans: lessons from yeast // *Biochem. Cell Biol.* – 2006. – Vol. 84, N 6. – P. 859–869.
891. Zhang X., Yang X. Singlet oxygen generation and triplet excited-state spectra of brominated BODIPY // *J. Phys. Chem. B.* – 2013. – Vol. 117, N 18. – P. 5533–5539.
892. Zhao C.C. [et al.]. Role of ADH2 and ALDH2 gene polymorphisms in the development of Parkinson's disease in a Chinese population // *Genet Mol Res.* – 2016. – Vol. 15, N 3. – P. 658–671.
893. Zheng J. [et al.]. Effects of antisense p38  $\alpha$  mitogen-activated protein kinase on myocardial cells exposed to hypoxia and burn serum // *Zhonghua Shao Shang Za Zhi.* – 2013. – Vol. 29, N 3. – P. 267–271.
894. Zheng J. Energy metabolism of cancer: Glycolysis versus oxidative phosphorylation (Review) // *Oncol Lett.* – 2012. – Vol. 4. – P. 1151–1157.
895. Zielonka J. [et al.]. Global profiling of reactive oxygen and nitrogen species in biological systems: high-throughput real-time analyses // *J. Biol Chem.* – 2012. – Vol. 287, N 5. – P. 2984–2995.
896. Zilan A. [et al.]. The role of supplementation or inhibition of nitric oxide production in burn injury to reduce ischemic damage // *Ulus.Travma.Derg.* – 2003. – Vol. 9, N 3. – P. 169–175.