

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

*Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук*

Нижний Новгород
2020

Работа выполнена в ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства Здравоохранения Российской Федерации

Научный консультант: Заслуженный деятель науки РФ,
академик РАН,
доктор медицинских наук,
профессор
Сергиенко Валерий Иванович

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук, заведующий лабораторией биохимии азотфиксации и метаболизма азота института биохимии им А.Н. Баха РАН Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» **Топунов Алексей Федорович**

заслуженный деятель науки РФ, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой биофизики и биотехнологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный университет» **Артюхов Валерий Григорьевич**

доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры биохимии им. академика Т.Т. Березова медицинского института Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов» **Сяткин Сергей Павлович**

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины»

Защита состоится “__” _____ 2020г. в __ часов на заседании диссертационного совета Д 001.002.01 при ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» по адресу: 109240, г. Москва, Устьинский проезд, 2/14.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке при ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (109240, г. Москва, Устьинский проезд, 2/14) и на сайте <http://www.ion.ru>.

Автореферат разослан “__” _____ 2020г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук

Шилина Наталия Михайловна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Исследование механизмов функционально-биохимической перестройки организма, попадающего в особые или экстремальные условия, 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 (Воробьев и др., 2010; Крылов и др., 2010). Наличие ингаляционной травмы отягощает течение ТТ, особенно в первые сутки (Назаров и др., 2007), вызывая развитие легочных осложнений, в итоге – летальный исход в 50% случаев (Глуткин, Ковальчук, 2016). Активацию свободно-радикального окисления (СРО), в частности, перекисного окисления липидов (ПОЛ), принято считать одним из главных механизмов эндогенной интоксикации (ЭИ) (Рязанцева и др., 2013; Neo et al., 2010), который имеет важное биохимическое значение в развитии ожоговой болезни (ОБ) (Артемьев и др., 2008; Белова, 2015; Кантюков и др., 2010; Manzanares et al., 2012; Porter, et al., 2016; Saraf et al., 2016).

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 (Белова, 2015). Эти механизмы включают энзиматическую биотрансформацию ксенобиотиков, конъюгацию реактивных метаболитов и гидрофильных соединений и антиоксидантную защиту, объединяющую антирадикальные и антиперекисные механизмы (Чурносков и др., 2011). 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 (Черняк, 2005; Новиков и др., 2014). При функционировании системы возможно образование реакционноспособных активных форм кислорода (АФК) и азота (АФА) (Коновалова, 2013; Лидохова, 2013; Белова, 2015), результатом этого может быть развитие окислительного стресса (ОС) (Часовских, 2009; Бородинкина, 2014). Несмотря на многочисленные исследования, посвященные процессам детоксикации и пероксидации, в немногих работах они считаются как согласованно функционирующие звенья единой системы (Черняк, 2005).

Поэтому, несмотря на имеющиеся результаты в анализе биохимических механизмов ОБ (Матвеев и др., 2013; Ильина, 2014; Gong, Xie, 2016), 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 КТТ. Это может яв-

ляться 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. В условиях чрезмерного образования токсических продуктов при ОБ развивается недостаточность естественной системы детоксикации (Григоренко, Козий, Куприн, 2007), приводящая к возникновению гипоксии органов вплоть до полиорганной недостаточности (Шень, 2011; Mendonça Machado, Gragnani, Masako Ferreira, 2011). Следовательно, при ОБ изменения оксидоредуктаз, регулирующих окислительный и энергетический метаболизм, биотрансформацию высокотоксичных метаболитов, могут играть ведущую роль (Шлык, 2009; Даниленко, 2012). 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 КТТ окончательно не установлена.

В ряде работ (Пожилова, Новиков, 2015; Глуткин, Ковальчук, 2016; Термические и химические повреждения... , 2017; Jacob et al., 2017) 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 (Белова, 2015). В связи с этим исследования, направленные на выявление особенностей регуляции оксидоредуктаз крови и тканей в норме и при патологии (на модели КТТ) 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 (Пожилова, Новиков, 2015), 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 (Dries, Endorf, 2013; Mokline et al., 2017). Несмотря на большое количество работ, роль NO в системной регуляции гомеостаза клеток и тканей до сих пор вызывает научные дискуссии (Пожилова, Новиков, 2015; Титов и др., 2012; 2019), а выявление биохимических механизмов действия NO требует дальнейшего анализа с целью обоснования возможности и практической це-

лесообразности их фармакологической регуляции (Пожилова, Новиков, 2015). 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.

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.

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 от 10.07.2009), оценки степени тяжести синдрома эндогенной интоксикации у больных с термической травмой (патент на изобретение № 2369871 от 10.10.2009), оценки динамики метаболизма крови у больных с термической травмой (патент на изобретение № 2392865 от 27.06.2010).

Разработанные устройства для насыщения крови газами (патент на полезную модель № 167710 от 10.01.2017), для обеспечения регенерации поврежденных кожных покровов в эксперименте (патент на полезную модель № 167633 от 10.01.2017) и для экспериментального моделирования термической

травмы кожи (патент на полезную модель № 179126 от 26.04.2018) 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, общей антиоксидантной активности (ОАА), повышении активности АлДГ, ЛДГ и коэффициента баланса энергетических реакций (КБЭР), уменьшении уровня малонового диальдегида (МДА) плазмы, активации 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, ката-

литических 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 хи-

мии «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.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

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.1. Протоколы опытов с участием животных и людей одобрены и утверждены Локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России (протокол №6 от 11.09.2012, протокол №5 от 16.07.2012, протокол №2 от 20.02.2016). Исследования соответствовали Хельсинской декларации (2000), «Правилам клинической практики в Российской Федерации», утвержденным Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003г. №266. Все лица (их законные представители), участвующие в исследовании, давали информированное согласие. Эксперименты на животных проводили с соблюдением принципов гуманности, согласно директивам Европейского сообщества (№86/609/ЕЕС, Страсбург, 1986).

Эксперименты проведены на крысах-самцах линии Wistar. Животные содержались в стандартных условиях вивария, согласно нормативам ГОСТа «Содержание экспериментальных животных в питомниках НИИ» (Руководство по экспериментальному ..., 2005), и были разделены путем стратифицированной рандомизации по массе тела и возрасту, и включали крыс массой 200-250 г. в возрасте 4-5 месяцев, из которых сформировали 24 группы, проведено 13 серий экспериментов (табл. 2). КТТ моделировали под наркозом (Zoletil 100 (60 мг/кг) + XylaVET (6 мг/кг)), нанося контактный термический ожог и термоингаляционное воздействие (Воробьев и др., 2009), животных выводили после КТТ путем декапитации на 1, 7 и 10 сутки.

Активность АлДГ определяли в эритроцитах, тромбоцитах и плазме крови крыс. Для выявления топохимии мембранной формы АлДГ эритроциты осаждали центрифугированием при 800g в течение 10 мин, четырежды промывали 5-кратным объемом 0,15М NaCl с 10мМ трис-HCl (pH 7,4). Отмытые эритроциты гемолизировали, помещая по 0,3 мл эритроцитов в пробирки с 10 мл 5 мМ трис-HCl (pH 7,4) и с 1 мМ ЭДТА. Через 30 мин гемолизат центрифугировали 10 мин при 16000g (Макаренко, 1987). Солюбилизацию эритроцитарной АлДГ проводили путем однократного суспендирования теней эритроцитов в 0,15 М и 0,3 М растворах KCl и последующего центри-

фугирования 10 мин при 15000g. Для оценки воздействия Mg^{2+} на АлДГ эритроцитов в условиях *in vitro* 1,7 % $MgCl_2$ или универсальный ингибитор активности АлДГ тетурам вносили непосредственно в среду для определения активности АлДГ (10 мкл на пробу объемом 300 мкл).

Таблица 1

Общее количество материала и его распределение по этапам исследования

№ этап	Решаемые задачи	Методы исследования	Биологический материал	Кол-во анализов
I	Исследовать систему антирадикальной и антиперекисной защиты при КТТ	Биохемиллюминесцентный анализ; определение концентрации МДА, активности ГР, каталазы, СОД; выделение субклеточных фракций тканей; электронно-микроскопические исследования	Плазма, эритроциты крови, субклеточные фракции ткани печени, почек, сердца, легких	7315
II	Определить направленность изменений каталитических и кинетических свойств оксидоредуктаз и выявить их взаимосвязь с биохимическими показателями у экспериментальных животных с КТТ	Определение активности АлДГ, ЛДГ, Гл-6-фДГ, АДГ, цитохром с-оксидазы, СДГ, кинетических характеристик ферментов, концентрации глюкозы, лактата, нитритов, нитратов; ионообменная хроматография; выделение субклеточных фракций тканей		26217
III	Обосновать возможность коррекции активности оксидоредуктаз АФК и АФА	Биохемиллюминесцентный анализ; оценка концентрации МДА, нитритов, нитратов, глюкозы, лактата, активности ГР, каталазы, СОД, АлДГ, ЛДГ, Гл-6-фДГ, АДГ, СДГ, цитохром с-оксидазы; выделение субклеточных фракций тканей		36258
IV	Изучить характер действия ингаляций NO на активность оксидоредуктаз при КТТ			2895
V	Оценить эффективность воздействия ДНКЖ на активность оксидоредуктаз при КТТ			5790
VI	Исследовать влияние ингаляций СК на активность оксидоредуктаз при ОБ			4097
Итого				82572

Изучена активность АлДГ в печени и эритроцитах крыс с КТТ спустя 6 месяцев после поражения и их потомства (I и II поколений). Кроме того исследования *in vitro* проводили на 36 образцах крови больных с площадью поражения от 20 до 60% поверхности тела сразу после поступления и спустя 6 – 12 месяцев после травмы. Для выяснения особенностей функционирования АлДГ печени при КТТ проводили частичную очистку, включающую фракционирование АлДГ сульфатом аммония в пределах насыщения 40-70%, гель-фильтрацию на сефадексе G-25, ионообменную хроматографию на ДЭАЭ-целлюлозе (Lindahl, Evces, 1984) с последующей оценкой каталитических и кинетических свойств фермента.

Ингаляционно-наружное воздействие NO или СК здоровых животных и крыс с КТТ осуществляли в эксикаторе 10 дней ежедневно по 10 мин, скорость подачи газовой смеси – 2 л/мин. Синтез NO-содержащей газовой смеси производили с помощью экспериментального аппарата, разработанного в

РФЯЦ-ВНИИЭФ (г. Саров) (Карелин и др., 2013; Буранов и др., 2015). Генерацию СК осуществляли с помощью аппарата «Airnergy» (Германия) при мощности 100%. ДНКЖ с глутатионом получали по А.Ф. Ванину (1998, 2005, 2017), их концентрацию определяли на спектрофотометре Power Wave XS (Bio-Tek, USA) при 310 и 360 нм (Бородулин и др., 2013).

Таблица 2

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 активности АлДГ при КТТ	45
IV	Интактные здоровые крысы в условиях ингаляций NO	NO, 20ppm	10 суток
		NO, 50 ppm	10 суток
		NO, 100 ppm	10 суток
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
		NO, 50 ppm	30 суток
		NO, 100 ppm	30 суток
		NO, 20ppm	60 суток
		NO, 50 ppm	60 суток
		NO, 100 ppm	60 суток
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 суток	15
XII	КТТ + ингаляции NO (20ppm) + введение ДНКЖ	10 суток	15
XIII	КТТ+физиологический раствор	10 суток	15
Всего			482

Для обоснования возможности коррекции активности оксидоредуктаз АФК и АФА проведен эксперимент *in vitro* на консервированной донорской крови, полученной в ГБУ ЗО Нижегородской области «Нижегородский областной центр крови им. Н.Я. Климовой» (г. Нижний Новгород) от практически здоровых доноров (n=50). Каждый образец разделяли на порции по 5 мл. Каждую серию эксперимента воспроизводили в 10 биологических повторностях. Кровь барботировали 3 минуты газовой смесью объемом 100см³: NO-содержащей холодной плазмой, генерируемой на минимальной (NO_{min}; 1 л/мин; 800 ppm) и максимальной (NO_{max}; 2 л/мин; 800 ppm) мощности

скальпель-коагулятор-стимулятора воздушно-плазменного СКВП/НО-01 «Плазон» (ЗАО «ЦВТМ при МГТУ им. Н.Э.Баумана», Москва; регистрационное удостоверение № ФСР 2007/00583 от 21.03.2012; паспорт КРЛД 38642.001 ПС); от аппарата для синтеза NO (РФЯЦ-ВНИИЭФ, г. Саров) при термостатировании (37C^0); от генератора СК (50% и 100% мощности) в условиях термостатирования (37C^0). К крови добавляли ДНКЖ: 0,0033 мл (9 нмоль/л); 0,05 мл (0,15 мкмоль/л); 0,1 мл (0,3 мкмоль/л); 0,2 мл (0,6 мкмоль/л); 1 мл (3 мкмоль/л). Экспозиция после воздействия NO, СК и ДНКЖ во всех случаях составляла 5 мин.

Для выяснения механизма действия ДНКЖ на АДГ к консервированной крови доноров добавляли 10% раствор тетурама (50:1), через 15 мин – р-р ДНКЖ (0,3 мкмоль/л), инкубировали 15 мин. Раствор тетурама готовили растворением 300 мг тетурама в 3 мл физиологического раствора, центрифугированием при 1000 об/мин 5 минут, использовали надосадочную жидкость. В условиях *in vivo* первой группе здоровых крыс 10 дней внутрибрюшинно вводили тетурам (10% р-р) в дозе 0,2 г/кг (Волошин и др., 1991), второй группе здоровых крыс спустя 2 часа после введения тетурама внутрибрюшинно 10 дней вводили 10%-ый раствор ДНКЖ (1 мл; 0,3 мкмоль/л). В условиях *in vivo* первой группе крыс с КТТ тетурам вводили внутрибрюшинно в дозе 0,2 г/кг за 60 мин до ожога и затем ежедневно на протяжении 10 суток, второй группе крыс с КТТ ежедневно вводили тетурам внутрибрюшинно в дозе 0,2 г/кг массы тела, спустя 2 часа внутрибрюшинно вводили 10%-ый раствор ДНКЖ (1 мл; 0,3 мкмоль/л) 10 дней.

Клиническая часть работы включала исследование 55 образцов крови больных старше 18 лет с термическими ожогами II-III степени площадью более 20% поверхности тела, в ранний период ОБ (1-14 сутки), лечившихся в Ожоговом центре Университетской клиники ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России и образцы крови 52 здоровых доноров. Пациенты рандомизированы в 2 группы: контрольная – больные с ТТ и опытная – больные с ТТ и ингаляциями СК (интенсивность 100%, 10 дней). Рандомизацию проводили методом генерации случайных чисел (Microsoft Excel) кратностью 4.

В работе использованы следующие методы исследования: приготовление гомогенатов органов и выделение субклеточных фракций (Егорова, Афанасьев, 2011; Гуреев и др., 2015); электронно-микроскопическое исследование митохондрий (Микроскопическая техника... , 1996); определение активности АДГ (Кершенгольц, Серкина, 1981); АДГ с использованием в качестве субстрата этилового спирта (Keung et al., 1989) и ацетальдегида (Koivusalo et al., 1989); ЛДГ с использованием в качестве субстрата молочной и пировиноградной кислоты (Кочетов, 1980); СДГ (Cooper, 1969); цитохром с оксидазы (Schwitzguebel, Siegenthaler, 1984); СОД (Сирота, 1999; 2016); каталазы и ГР (Сибгатуллина и др., 2011); Гл-6-фДГ (Кочетов, 1980); кинетических характеристик ферментов (K_t – время полупревращения субстрата для ферментативной реакции, мин; V_{\max} – максимальная скорость накопления продукта реакции при полном расходе субстрата, мкмоль НАДН/мин; V_{\max}/K_t – коэффициент каталитической эффективности ферментативной реакции,

мкмоль НАДН/мин²) (Kostir, 1985; Зимин, 1993); спектрофотометрический двухволновый метод количественного определения белков (Kalb, Bernlohr, 1977); оценка концентрации ТБК-реактивных продуктов (МДА) (Uchiyama, Mihara, 1978; Mihara, Uchiyama, Fukuzawa, 1980); спектрофотометрический метод определения метаболитов NO (NO₂⁻ и NO₃⁻), основанный на реакции Грисса (Метельская, Гуманова, 2005); метод биохемилюминесцентного анализа (tg 2α – показатель, свидетельствующий об ОАА; S – светосумма хемилюминесценции за 30 с., отражающая способность биологического объекта к СРО) (Кузьмина и др., 1983); концентрацию глюкозы и лактата определяли на автоматическом анализаторе глюкозы и лактата Super GL Ambulance (Dr. Muller, Германия); характер ингибирования и активации ферментов определяли по В.И. Крупянко (2007); морфологическое исследование легких (Коржевский, Гиляров, 2010) проводили с использованием морфометрического комплекса Leica DM 1000 и цифровой камеры Leica DFC 290 HD (Leica Microsystems, Германия).

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью пакета программ Microsoft Excel, Biostat 4.3, Statistica 6.0 (Statsoft Inc., USA) и использовали t-критерий Стьюдента. В таблицах и на рисунках представлены данные как среднее значение ± среднее квадратичное отклонение (M±σ). Для проверки гипотезы о соответствии распределения полученных вариантов нормальному распределению применяли критерий Шапиро-Уилка. 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) (Гланц, 1998). Для оценки достоверности взаимосвязи между различными параметрами использовали коэффициент корреляции по Пирсону.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Особенности регуляции оксидоредуктаз крови и тканей

при экспериментальной комбинированной термической травме

Полученные результаты свидетельствовали об интенсификации СРО при КТТ в органах: легкие>сердце>печень>почки (табл. 3). Известно, что недостаточность органов дыхания является наиболее частым компонентом, встречающимся при ОБ (Островский, 2009), ключевую роль в развитии которого может играть ПОЛ (Lichtenstern et al., 2011; Yin et al., 2011). Обнаружено максимальное повышение СРО на 1 сутки после КТТ, при этом наибольший рост концентрации ТБК-активных продуктов после КТТ наблюдался в цитоплазматической фракции легких (на 88,14% (p=0,007)) и сердца (на 81,42% (p=0,013)) и в митохондриях печени (на 70,30% (p=0,027)) и почек (на 58,48% (p=0,017)). В период ожогового шока происходит активация процессов липолиза с увеличением количества триацилглицеринов, липопротеинов очень низкой плотности, наблюдается разобщение синтеза и транспорта липидов (Кантюков и др., 2010).

Выраженное увеличение СРО в легких может быть обусловлено миграцией в них нейтрофилов, генерирующих АФК, создавая угрозу окислительного повреждения этих органов (Михальчик, 2006). Оксиданты опосредуют

повреждение фибробластов, снижение активности сурфактанта, стимуляцию образования тромбосана, повышение проницаемости эпителия, ухудшение функции ресничек, нарушая функционирование легких (Соодаева, 2002).

Таблица 3

Показатели свободнорадикального окисления в органах крыс

Орган	Субклеточная фракция	Условия эксперимента	S, усл.ед.	МДА, мкмоль/л
печень	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	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	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	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*
		КТТ, 10 сутки	6,214±0,171*	5,089±0,117*
	митохондриальная	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 ($p < 0,05$) с 1 сутками КТТ ($p < 0,05$); *** - различия статистически значимы по сравнению ($p < 0,05$) с 7 сутками КТТ ($p < 0,05$).

ОАА характеризовалась большой амплитудой колебания значений при КТТ и снизилась в исследуемых органах крыс на 1, 7, 10 сутки после КТТ наряду с уменьшением удельной активности СОД, каталазы, ГР, Гл-6-фДГ (табл. 4). Показано, что в разных органах соответственно тканевой специфичности метаболизма превалируют определенные компоненты АОС. На 1 сутки после КТТ в печени выявлено максимальное снижение ОАА, СОД, каталазы и ГР, в почках – ОАА, каталазы, в сердце и легких крыс – каталазы, ГР и Гл-6-фДГ. Но в процессе утилизации экзогенных окислителей, свободных радикалов участвуют системы естественной детоксикации совокупности органов и тканей (Гоженко и др., 2009).

Общая антиоксидантная активность и удельная активность ферментов в субклеточных фракциях органов крыс с комбинированной термической травмой

Орган	Субклеточная фракция	Условия эксперимента	tg2α, усл.ед.	СОД, %инг./мин×мг белка	Каталаза, мкмольН ₂ О ₂ /мин×мг белка	ГР, нмоль НАДФН/мин×мг белка	Гл-6-фДГ, нмоль НАДФН/мин×мг белка
Печень	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	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	цитоплазматическая	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**/**/**
	митохондриальная	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	цитоплазматическая	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**/**
	митохондриальная	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).

В соответствии с данными литературы (Рязанцева, 2011; Безручко и др., 2012; Искусных, 2012) и в проведенной работе основная активность каталазы, ГР и Гл-6-фДГ у здоровых животных и крыс на 1, 7 и 10 сутки после КТТ обнаружена в цитоплазматической фракции органов. Основная активность СОД у здоровых животных находилась в митохондриях печени (75% суммарной активности), почек (60%), легких (58%), сердца (59%). Данная тенденция сохранилась и при КТТ на фоне более низкой общей активности СОД во фракциях органов.

В эритроцитах выявлено падение ОАА, удельной активности СОД, каталазы, ГР и Гл-6-фДГ на 1, 7 и 10 сутки после КТТ, что согласовалось с данными литературы о снижении активности каталазы и СОД в первые сутки после ожога в зоне повреждения и неповрежденном эпидермисе вблизи очага (Глуткин, Ковальчук, 2016). Максимальное уменьшение в крови показателей АОС выявлено на 1 сутки после КТТ. Ингибирование оксидоредуктаз, вероятно, связано с усилением окислительно-восстановительных процессов, снижением энергетического обмена в митохондриях, конформационными модификациями молекул ферментов в условиях ОС (Агарков и др., 2017). Депрессия глутатионовой защиты при КТТ может быть вызвана воздействием на ГР некоторых полиненасыщенных жирных кислот (Коржов, Жадан, 2003), нарушением пентозофосфатного цикла, и, в частности, снижением активности Гл-6-фДГ, что приводит к уменьшению содержания НАДФН, который включается в реакцию, катализируемую ГР (Кулинский, Колесниченко, 2009). Выявленные факты постожогового снижения активности Гл-6-фДГ при КТТ следует рассматривать как индикатор перенапряжения глутатионовой системы в условиях ОС (Vincent, 2002).

При КТТ в органах ингибирование каталазы, ГР обусловлено повышением Kt, Гл-6-фДГ – уменьшением ее каталитической эффективности. В эритроцитах уменьшение удельной активности СОД и каталазы при КТТ сопровождалось повышением Kt и снижением V_{max}/Kt . Для реакций, катализируемых ГР и Гл-6-фДГ, было характерно снижение V_{max} и V_{max}/Kt при КТТ. Характеристика типов ингибирования ферментов АОС приведена в таблице 5.

При ТТ митохондрии концентрируют в себе большую часть окислительных метаболических путей и содержат многочисленные редокс-переносчики (Андреев и др., 2005; Korshunova et al., 2017). Состоянием дыхательной цепи митохондрий определяется энергетический и окислительный метаболизм клеток, от которого зависит функционирование организма (Georgieva et al., 2017). Известно о генетически обусловленной гетерогенности митохондрий по морфологии, размерам, форме, плотности, участию в апоптозе клетки и старении, свойствам и функциональной активности (Шишмаков и др., 2004; Kurz et al., 1999). В ходе проведенного электронно-микроскопического исследования выявлен полиморфизм митохондриальной фракции: в исследованных образцах присутствовали крупные и мелкие митохондрии с сохранными мембранами (рис. 1А). Часть митохондрий имела плотный матрикс и четкие кристы. 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. 1Б).

Таблица 5

Характеристика типов ингибирования ферментов
антиоксидантной защиты при КТГ

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

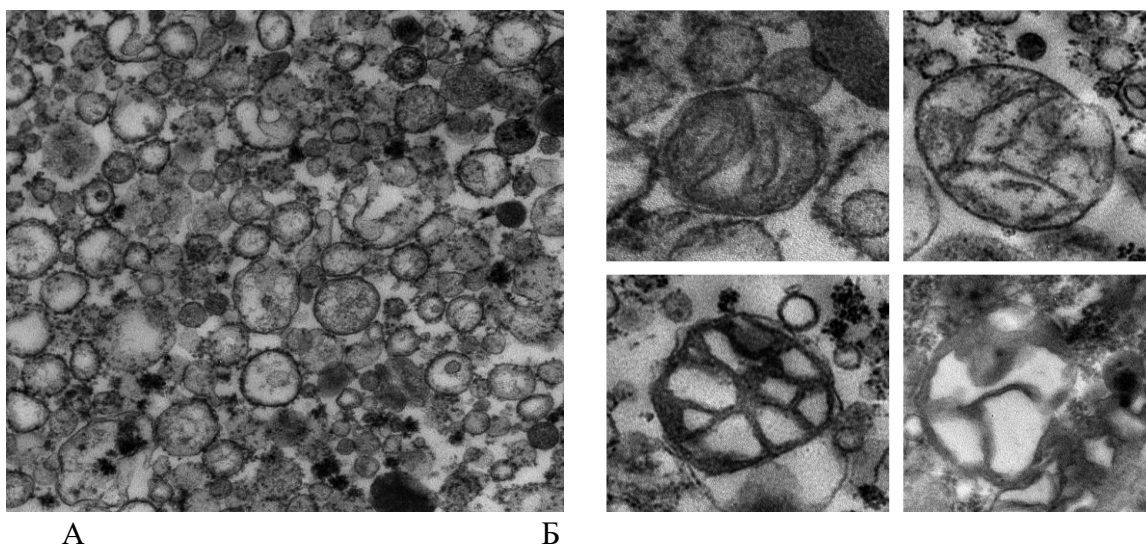


Рис.1. Электронно-микроскопическое изображение фракции митохондрий печени крысы, трансмиссионный электронный микроскоп Hitachi HT7700. А – увеличение $\times 10000$; Б – гетерогенность ультраструктуры митохондрий фракции из печени крысы, увеличение $\times 22000$.

Выявлено угнетение энергетического обеспечения митохондрий при КТГ, проявляющееся в уменьшении активности СДГ и цитохром *c* оксидазы в печени, почках, сердце и легких на 1, 7 и 10 сутки после травмы (рис. 2, 3), что свидетельствует о снижении в клетке аэробного и усилении анаэробного

окисления, уменьшении сукцинатзависимого дыхания в митохондриях и активности цикла лимонной кислоты при КТТ (Довжикова, 2011).

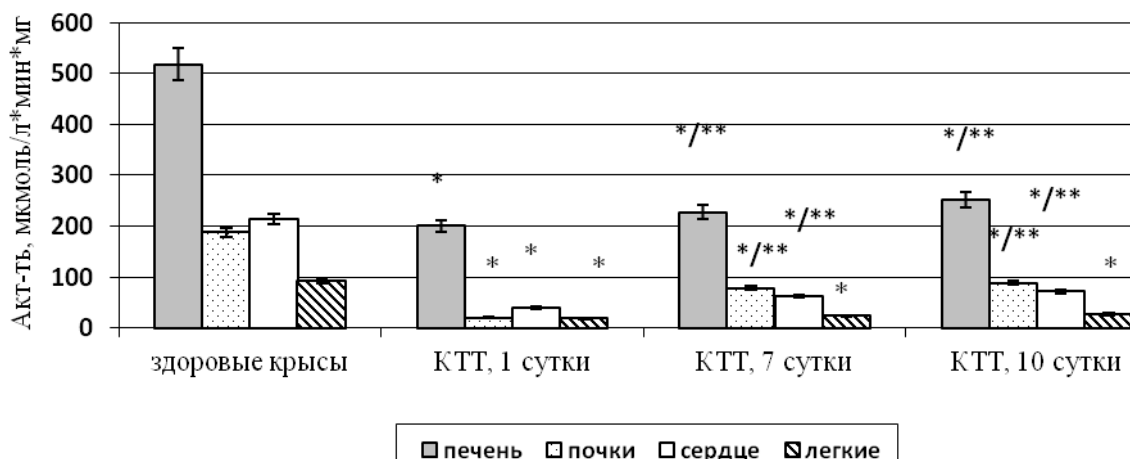


Рис. 2. Активность сукцинатдегидрогеназы в митохондриях органов крыс с КТТ

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

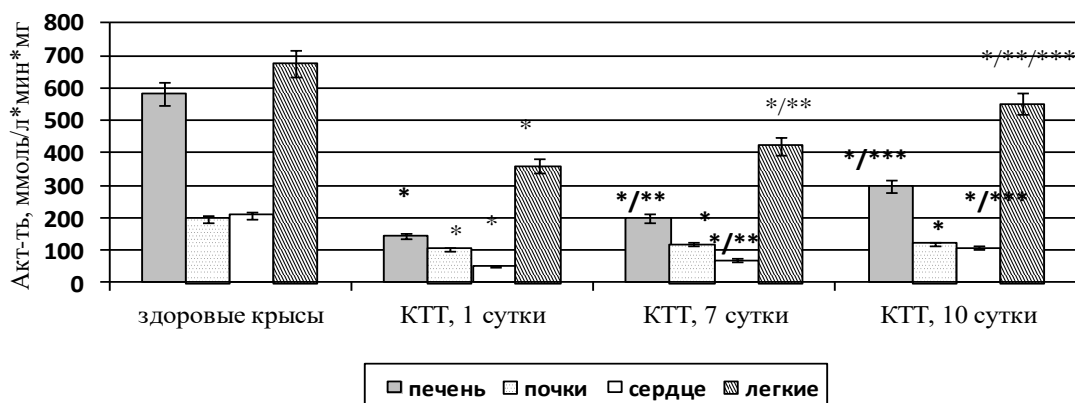


Рис. 3. Активность цитохром *c* оксидазы в митохондриях органов крыс с КТТ

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

Наибольшее уменьшение активности СДГ и цитохром *c* оксидазы отмечено на 1 сутки после КТТ. Данные изменения возникают в результате усиления СРО, продукты которого инициируют набухание митохондрий и разобщение окислительного фосфорилирования, инактивируют тканевые ферменты, участвующие в дыхании и гликолизе, нарушают работу электронного транспорта в мембране митохондрий и синтез АТФ в клетках, окисляют гидрильные группы белков у тяжелообожженных (Полутова и др., 2009; Nybertson et al., 2011). Снижение активности СДГ в условиях недостатка O_2 , развивающегося в клетках при КТТ (Zheng et al., 2013), может быть обусловлено активацией фумаратредуктазной реакции, в ходе которой вырабатываются АФК, способные инактивировать СДГ (Powell, Jackson, 2003).

Ингибирование СДГ и цитохром *c* оксидазы в митохондриях органов при КТТ обусловлено повышением Кт. Отмечено двухпараметрически согла-

сованное ингибирование СДГ в митохондриях печени, почек, сердца и легких при КТТ. Падение удельной активности цитохром *c* оксидазы в почках, сердце и легких при КТТ происходило по типу двухпараметрически согласованного ингибирования, в печени – по типу ассоциативного ингибирования.

Таким образом, определение активности СДГ и цитохром *c* оксидазы может служить дополнительным прогностическим маркером метаболических нарушений при гипоксии, обусловленной КТТ, и помочь в разработке адекватной тактики лечения ОБ, т.к. СДГ в значительной мере определяет скорость потребления кислорода и образования АТФ в дыхательной цепи, а цитохром *c* оксидаза участвует в генерации АФК, особенно в патофизиологических условиях (Pasdois et al., 2011).

В крови крыс выявлены нарушения в углеводном метаболизме, проявившиеся в гипергликемии на 1, 7, 10 сутки после КТТ и, как следствие, накоплении лактата, концентрация которого характеризует недостаточность поступления кислорода к тканям (Шанин и др., 2003). В условиях гипоксии клетка поддерживает энергетические потребности за счет активации процессов глюконеогенеза, гликогенолиза, анаэробного гликолиза, который частично компенсирует недостаток АТФ, однако быстро вызывает накопление лактата (Чеснокова и др., 2006). При этом усиливается ацидоз, что, в свою очередь, вызывает повреждение клеточных мембран, сопровождающееся инициацией ПОЛ (Нагорная и др., 2008).

Избыток лактата определяется соотношением НАДН/НАД в клетке, уровень которого зависит от активности и направленности ЛДГ. При КТТ отмечено снижение удельной активности ЛДГ_{пр} и ЛДГ_{обр} в эритроцитах, печени, почках, сердце, легких на 1, 7, 10 сутки после ожога, максимально выраженное в период ожогового шока (1 сутки). Ингибирование ЛДГ как в прямой, так и в обратной реакциях в органах при КТТ обусловлено снижением сродства фермента к субстратам и его каталитической эффективности. В крови, сердце и легких при КТТ отмечено двухпараметрически согласованное ингибирование, в печени и почках – ассоциативное. Установлено снижение КБЭР в субклеточных фракциях органов у животных с КТТ (максимальное – в печени), что свидетельствует о нарушении энергетического метаболизма, способствует увеличению содержания молочной кислоты, которая образуется преимущественно М-формой ЛДГ (ЛДГ_{обр}) (табл. 6).

ЛДГ, находясь на развилке путей метаболизма углеводов, участвует в регуляции анаэробного и аэробного гликолиза и образует единый функциональный надмолекулярный комплекс с АДГ, который оказывает существенное влияние на окислительно-восстановительный потенциал клетки (Зимин и др., 2001). Отмечено снижение удельной активности АДГ_{пр} и АДГ_{обр} в субклеточных фракциях органов на 1, 7 и 10 сутки после КТТ, которое обусловлено уменьшением V_{max} и V_{max}/K_t и наиболее выражено в печени. Максимальное падение удельной активности АДГ_{пр} и АДГ_{обр} в почках, сердце и легких отмечено на 1 сутки после КТТ. В субклеточных фракциях печени и почек при КТТ выявлено двухпараметрически согласованное ингибирование АДГ_{пр} и АДГ_{обр}, в сердце и легких – каталитическое. Установлено повыше-

ние соотношения АДГпр/АДГобр в субклеточных фракциях органов (максимальное – в печени и почках) у крыс с КТТ, что свидетельствует о накоплении высокотоксичного альдегида, приводящего к развитию КС.

Таблица 6

Удельная активность альдегиддегидрогеназы (нмоль НАДН/мин×мг белка), коэффициент баланса энергетических реакций и соотношение АДГпр/АДГобр в гомогенате органов здоровых крыс и животных с комбинированной термической травмой

Орган	Условия эксперимента	АДГпр/АДГобр	АлДГ	КБЭР
Печень	Здоровые крысы	0,389±0,004	73,129±2,535	62,224±1,108
	КТТ, 1 сутки	0,538±0,010*	40,190±1,278*	10,124±0,249*
	КТТ, 7 сутки	0,731±0,012*/**	47,338±1,304*/**	16,551±0,276*/**
	КТТ, 10 сутки	0,416±0,008*/**/**	48,539±2,403*/**	19,902±0,115*/**
Почки	Здоровые крысы	0,217±0,006	106,546±4,379	66,803±1,203
	КТТ, 1 сутки	0,335±0,014*	32,461±1,238*	20,627±0,345*
	КТТ, 7 сутки	0,336±0,009*	35,430±2,016*	24,615±0,167*
	КТТ, 10 сутки	0,289±0,007*/**/**	38,307±2,543*	27,877±0,223*/**
Сердце	Здоровые крысы	0,267±0,004	25,465±1,348	63,196±2,031
	КТТ, 1 сутки	0,292±0,009*	11,870±0,825*	43,995±1,229*
	КТТ, 7 сутки	0,302±0,005*	18,090±0,773*/**	43,966±2,005*
	КТТ, 10 сутки	0,328±0,010*/**/**	18,829±0,496*/**	45,448±1,014*
легкие	Здоровые крысы	0,178±0,004	47,670±2,010	31,281±1,153
	КТТ, 1 сутки	0,270±0,015*	30,379±0,986*	10,169±0,158*
	КТТ, 7 сутки	0,248±0,020*	34,191±1,170*	11,829±0,675*
	КТТ, 10 сутки	0,223±0,008*/**	37,580±1,453*/**	26,975±0,843*/**

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

ОБ, развивающаяся вследствие ТТ, сопровождается ЭИ (Малахова, 2000), важнейшим защитным гомеостатическим барьером от которой служит система биотрансформации, включающая ферменты митохондриального и немитохондриального окисления. К последним относится АлДГ, особенности регуляции которой при КТТ изучены в следующей части работы. Отмечено снижение активности АлДГ в эритроцитах, тромбоцитах и плазме крови на 1, 7 и 10 сутки после КТТ. АлДГ в эритроцитах проявила активность в 2 раза большую, чем в тромбоцитах. Максимальное снижение удельной активности АлДГ при КТТ выявлено на 1 сутки после травмы в субклеточных фракциях печени, почек, сердца и легких с наибольшим уменьшением в митохондриях. Падение удельной и общей активности АлДГ при КТТ, возможно, связано с увеличением содержания молекул средней молекулярной массы, которые, связываясь с ферментом, переводят его в новое конформационное состояние с пониженным сродством к субстрату реакции (Зимин, Соловьева, 2010).

Ингибирование АлДГ в печени, почках и легких при КТТ обусловлено снижением сродства фермента к субстрату и V_{max}/K_t . При этом во всех исследуемых паренхиматозных органах крыс с КТТ выявлено снижение V_{max} . Таким образом, в крови и субклеточных фракциях легких, печени и почек отмечено двухпараметрически согласованное ингибирование АлДГ, в сердце – каталитическое. КТТ привела к перераспределению общей активности АлДГ, которое зависело от органа и определялось временем после ожога.

Отмечена активация АлДГ эритроцитов интактных крыс под влиянием Mg^{2+} на 93,89% ($p = 0,013$), возможно, либо путем изменения свойств аллостерических центров фермента, либо изменением числа функционирующих активных центров. Тот факт, что ионы Mg^{2+} увеличивают активность АлДГ эритроцитов и митохондриального изофермента печени, подтверждает сход-

ство АлДГ эритроцитов с митохондриальной АлДГ как по кинетическим показателям, так и по своим регуляторным свойствам.

Особенности регуляции АлДГ эритроцита до сих пор в научной литературе представлены крайне фрагментарно, особенно это касается различных молекулярных форм фермента (Bosman et al., 2010). Показано, что активность фермента в «тенях» эритроцитов, которые представляют мембрану данных клеток, составила 51,3% от общей активности АлДГ гемолизата клеток, в матриксе эритроцитов – 45,2%. Таким образом, АлДГ – преимущественно мембраносвязанный фермент. Поэтому дальнейшие эксперименты были посвящены определению прочности связи АлДГ с мембраной эритроцита. Однократное воздействие на фрагменты мембран эритроцитов 0,15М раствором КСl привело к снижению удельной активности АлДГ в «тенях» на 39,5% ($p=0,019$). Однократная солюбилизация мембраносвязанной АлДГ эритроцитов 0,3М раствором КСl вызвала увеличение активности АлДГ в супернатанте на 26,4% ($p=0,034$) и уменьшение в «тенях» эритроцитов на 49,1% ($p=0,012$) (табл. 7). Следовательно, АлДГ находится в эритроцитах, как минимум в трех основных надмолекулярных формах: матриксная, лабильно и прочносвязанная с мембраной. По мере удаления части АлДГ с мембраны эритроцитов, сродство фермента к субстрату реакции возросло.

Таблица 7

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 солюбилизации 0,15М раствором КСl ($p<0,05$).

Таким образом, различные надмолекулярные формы АлДГ имеют определенную топохимическую организацию в эритроцитах крови крыс, что важно для регуляции данного фермента биотрансформации в клетке. В работе выделен и частично очищен препарат АлДГ из печени интактных крыс и крыс с КТТ. Выход АлДГ составил 45,25% (интактные крысы), и 40,82% (крысы с ожогом). Степень очистки у контрольной группы – 11,03, у опытной группы – 10,91 (табл. 8). Установлено отсутствие субстратной специфичности у АлДГ, выделенной у здоровых и крыс с КТТ, по отношению к альдегидам (салициловому, глутаровому, бензальдегиду, ацетальдегиду, формальдегиду), с наибольшей скоростью АлДГ окисляла салициловый и глутаровый альдегид.

Отмечен дефицит АлДГ в I и II поколениях крыс с КТТ, что свидетельствует о приобретенной энзимопатии (табл. 9). Основываясь на данных литературы о нарушениях метаболизма и клинических изменениях, связанных с мутациями генов АлДГ1, АлДГ2, АлДГ4, АлДГ10 (Yoshida et al., 1998), можно полагать, что КТТ повлияла на гены АлДГ, в частности, на синтез белка.

Таблица 8

Результаты очистки альдегиддегидрогеназы из печени здоровых крыс и крыс с ТТ

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 ₄) ₂ SO ₄	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).

Таблица 9

Активность альдегиддегидрогеназы в эритроцитах крыс с КТТ и их поколений

Показатель	Группа животных			
	Контрольная	I (n=13)	II (n=35)	III (n=38)
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*
V _{max} , мкмоль/мин	5,46±0,75	3,14±0,22*	3,02±0,17*	2,85±0,24*
V _{max} /Kt, кмоль/мин ²	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 тяжелой термической травмы; II группа – I поколение (в возрасте 6 месяцев) животных с тяжелой термической травмой; III группа - II поколение (в возрасте 6 месяцев) животных с тяжелой термической травмой (p<0,05); * - различия достоверны по сравнению с контрольной группой (p<0,05); ** - различия достоверны по сравнению с I группой (p<0,05); *** - различия достоверны между II и III группами (p<0,05); n – количество животных.

В работе выявлено снижение концентрации стабильных конечных метаболитов NO в органах крыс с КТТ на фоне их повышения в крови. Наибольшее падение уровня NO_x, NO₂⁻ и NO₃⁻ при КТТ наблюдалось в почках. На основании математического ожидания по уровню «прочности» связи между показателями окислительного статуса, углеводного обмена и оксидоредуктазами определена вероятность их участия в формировании гипоксии и ЭИ при КТТ. В субклеточных фракциях печени на 1, 7, 10 сутки после КТТ отмечена статистически значимая положительная корреляция между активностью ГР и уровнем нитратов, СОД и каталазой, ЛДГпр и АлДГ и обратная корреляция между МДА и АлДГ, свидетельствуя о нарушении окислительно-восстановительных процессов в гепатоцитах. В гомогенате, цитозоле и митохондриях сердца, почек, легких на 1, 7, 10 сутки после КТТ выявлена статистически значимая положительная корреляция между активностями ЛДГпр и АлДГ, ГР и Г-6-фДГ, ОАА и СОД, каталазой, а также отрицательная корреляция между показателем S и ОАА, МДА и СОД, каталазой, ГР.

Схема участия оксидоредуктаз в биохимических механизмах развития ожоговой болезни представлена на рисунке 4. Развитию ОБ при КТТ сопутствуют сосудисто-тканевые изменения и нарушения гемодинамики и микро-

циркуляции, 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, что приводит к развитию КС.

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 активируется образование не только свободных радикалов кислорода, но и NO. Снижение АОС и нарушение микроциркуляции способствуют накоплению нитритов и нитратов, приводящих к развитию НС.

АФК и АФА, продукты ПОЛ, возрастающего при КТТ, являются источником повреждения клеток и тканей в результате инактивации биоантиоксидантов, утечки АО и высвобождения ионов металлов (железа и меди) из мест их накопления в клетках, что способствует формированию ОС. Нарушение биохимических механизмов развития ОС при КТТ вызывает кислородное голодание, ЭИ, стимуляцию образования АФК и ПОЛ, истощение АОС с последующим возникновением антиоксидантной недостаточности. ОС, НС и КС приводят к нарушению структурной организации и проницаемости мембран, вызывая мембранодеструктивные процессы и инактивацию мембраносвязанных ферментов и мембранных рецепторов. Уменьшение интенсивности гликолиза при КТТ сопровождается ингибированием ЛДГпр и ЛДГобр, приводя к изменению соотношений лактат/пируват и НАД/НАДН, от которых зависит окислительно-восстановительное состояние клетки, активность ряда ферментов. При КТТ отмечена дисфункция митохондрий, выступающих источником АФК, проявляющаяся в снижении активности СДГ, цитохром *c* оксидазы. Выявленные нарушения вызывают повреждение органов и развитие полиорганной недостаточности при КТТ, приводя к «метаболическому дистрессу» (Грибань, Терехов, 2010; Conti, 2013; Mogosanu, Grumezescu, 2014). Таким образом, КТТ сопровождается возрастанием СРО, ускорению которого способствуют биохимические изменения при КТТ, такие как гипоксия, активация клеток воспаления и гемостаза, снижение системы детоксикации, усиление липолиза и повышение содержания в крови жирных кислот (Кантюков и др., 2010; Georgieva et al., 2017; Jacob et al., 2017), истощение ОАА, причиной чего является изменения активности ферментативных окислительных систем.

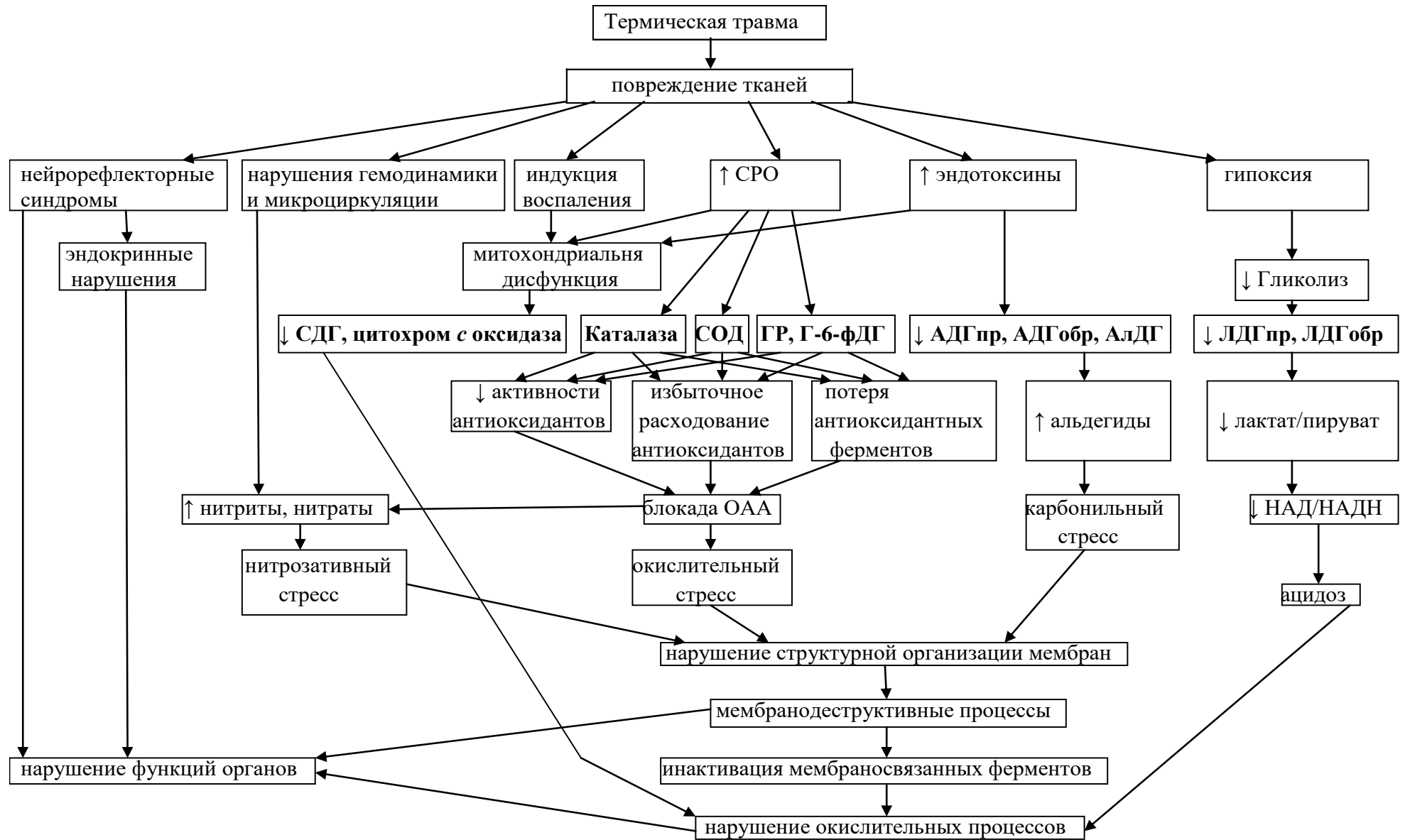


Рис. 4. Схема участия оксидоредуктаз в биохимических механизмах развития ожоговой болезни

Обоснование возможности применения активных форм кислорода и азота на примере изменения активности окислительно-восстановительных ферментов

С саногенетическими целями в биологии и медицине применяют АФК и АФА (Малахов и др., 2009), которые обладают антиоксидантными, детоксикационными, вазодилатирующими свойствами (Bredt, 2003), играют важную роль в секреторной и репродуктивной системе (Шупик, 2012; Стрельцова, 2013; Lok et al., 2014), что вызывает оправданное стремление использовать их в профилактических и лечебных целях. Биологические эффекты NO зависят от его концентрации, наличия ферментов-мишеней в клетке, продуктов, которые образуются в результате взаимодействия NO с кислородом (Рябов, Азизов, 2001; Thomas et al., 2008). Поэтому использование окислительных методов терапии связано с необходимостью исследования СРО и активности окислительно-восстановительных ферментов, так как изменение баланса про- и антиоксидантных систем организма является одним из диагностических критериев тяжести патологического состояния, характеризуя формирование и прогрессирование ОС, НС и КС (Павлюченко и др., 2012).

Выявлен дозозависимый эффект действия NO на окислительный и энергетический метаболизм консервированной крови, зависящий от формы введения препарата и особенностей генератора NO. Обработка крови холодной плазмой, содержащей 800 ppm NO, высокими концентрациями газообразного NO (50 ppm и 100 ppm) и ДНКЖ (0,6 мкмоль/л и 3 мкмоль/л) вызвала лактатацидоз, гипергликемию (табл. 10), снижение КБЭР (табл. 11), конкурентное ингибирование АДГ и накопление МДА, повышение СРО и уменьшение активности ферментов АОС (табл. 12), вызывая КС и ОС. Наиболее выраженные изменения биохимических показателей крови отмечены при использовании NOmax.

Таблица 10

Концентрация лактата и глюкозы в консервированной крови под влиянием АФК и АФА

Условия эксперимента	Лактат, ммоль/л		Глюкоза, ммоль/л	
	Плазма	Эритроциты	Плазма	Эритроциты
Интактная кровь (5 мл) (контроль)	7,469±0,122	3,538±0,121	34,225±1,115	10,889±0,503
Кровь (5 мл) + физ. р-р	7,457±0,068	3,542±0,168	34,208±0,986	10,902±0,215
Кровь (5 мл) + NO (20 ppm)	6,009±0,037*	2,868±0,157*	25,924±1,067*	7,983±0,114*
Кровь (5 мл) + NO (50 ppm)	8,771±0,219*	3,739±0,096	33,965±2,008	10,214±0,348
Кровь (5 мл) + NO (100 ppm)	8,612±0,307*	4,269±0,207*	39,970±1,345*	11,425±0,401
Кровь (5 мл) + NOmin	7,994±0,085*	3,913±0,085*	36,281±2,013	12,629±0,534*
Кровь (5 мл) + NOmax	8,735±0,263*	5,748±0,223*	37,250±1,428*	16,242±1,005*
Кровь (5 мл) + СК (50%)	6,987±0,159*	3,540±0,202	28,864±0,993*	6,834±0,162*
Кровь (5 мл) + СК (100%)	6,860±0,207*	3,081±0,135*	25,445±1,162*	7,694±0,237*
Кровь (5 мл) + 0,0033 мл ДНКЖ	7,243±0,216	3,409±0,215	33,967±1,285	10,689±0,724
Кровь (5 мл) + 0,05 мл ДНКЖ	7,033±0,175*	3,306±0,042*	28,317±0,976*	6,359±0,134*
Кровь (5 мл) + 0,1 мл ДНКЖ	5,971±0,163*	2,782±0,069*	28,450±2,107*	6,181±0,305*
Кровь (5 мл) + 0,2 мл ДНКЖ	7,901±0,084*	3,999±0,154*	39,567±1,318*	10,265±0,411
Кровь (5 мл) + 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).

Негативный эффект высоких концентраций ДНКЖ и газообразного NO может быть обусловлен одномоментным высвобождением большого объема

NO, способствующего образованию пероксинитрита, вызывающего стимуляцию ПОЛ. В литературе отмечено ингибирующее действие NO по механизму обратной связи только на очищенный препарат АлДГ (Szabo et al., 1994). При этом характер воздействия NO на АлДГ обусловлен связыванием продукта окисления NO (N_2O_3) с Cys-302 в активном центре фермента и зависит от продолжительности воздействия и концентрации NO. АлДГ, прежде всего, ее митохондриальная изоформа, принимает участие в высвобождении молекулы NO из нитровазодилататоров (Wenzl et al., 2011). В результате ингибирования активности АлДГ газообразным NO в высоких концентрациях нарушается: 1) связывание с кофактором АлДГ (НАД⁺ и НАДФ⁺); 2) альдегидный субстрат блокирует NO-ингибирование; 3) NO ингибирует АлДГ за счет взаимодействия со свободными SH-группами фермента (DeMaster et al., 1997).

Низкие концентрации газообразного NO (20 ppm) и ДНКЖ (0,3 мкмоль/л (0,1 мл), 0,15 мкмоль/л (0,05 мл)) обладали антигипоксическим (снижение уровня лактата и повышении КБЭР) и гипогликемическим действием, детоксикационными и антиоксидантными свойствами (снижение СРО и увеличение ОАА и антиоксидантных ферментов).

Таблица 11

Удельная активность альдегиддегидрогеназы, лактатдегидрогеназы и коэффициент баланса энергетических реакций в консервированной крови под влиянием АФК и АФА

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

Под влиянием газообразного NO, генерируемого аппаратом «Плазон» (NO_{min}, NO_{max}) и экспериментальным генератором NO (100 ppm), а также при добавлении к консервированной крови 0,2 мл и 1 мл ДНКЖ для ЛДГпр и ЛДГобр отмечено конкурентное ингибирование, для СОД, каталазы – смешанное, для ГР, Гл-6-фДГ – неконкурентное. Активация АлДГ, ЛДГ, СОД, каталазы, ГР и Гл-6-фДГ в эритроцитах крови под влиянием низких концентраций газообразного NO (20ppm и 50ppm) и ДНКЖ (0,15 мкмоль/л и 0,3 мкмоль/л), ингаляций СК (50% и 100% интенсивности) обусловлена снижением Кт и увеличением каталитической эффективности ферментов.

Активации АлДГ под влиянием ДНКЖ, возможно, способствует потенциальное сходство органических нитратов как основных субстратов фермента и экзогенных нитрозильных комплексов железа, деструкция которых в

организме частично может обеспечиваться функционированием АлДГ. Небольшие концентрации газообразного NO (20 ppm) могут быстро утилизироваться каталазой, дезоксигемоглобином, цитохромом *c* (Godoy et al., 2006).

Таблица 12

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

Условия эксперимента	СОД, %инг./мин×мг белка	Каталаза, мкмольH ₂ O ₂ /м ин×мг белка	ГР, нмоль НАДФН/мин× мг белка	Гл-6-фДГ, нмоль НАДФН/мин× мг белка
Интактная кровь (5 мл) (контроль)	823,671±13,024	38,542±1,119	75,982±2,041	54,261±1,124
Кровь (5 мл) + физ. р-р	819,954±15,386	39,016±2,034	76,054±3,112	54,503±0,946
Кровь (5 мл) + NO (20 ppm)	885,423±10,250*	45,679±1,963*	81,638±1,087*	60,357±0,715*
Кровь (5 мл) + NO (50 ppm)	891,517±11,032*	50,187±3,025*	82,495±2,009*	66,284±2,351*
Кровь (5 мл) + NO (100 ppm)	744,259±19,014*	31,024±1,166*	62,184±1,567*	41,195±1,188*
Кровь (5 мл) + NO _{min}	775,361±12,028*	32,118±1,253*	60,577±1,218*	44,263±2,451*
Кровь (5 мл) + NO _{max}	736,219±13,546*	25,673±1,125*	52,695±2,543*	38,497±3,004*
Кровь (5 мл) + СК (50%)	917,028±22,007*	49,572±3,099*	76,223±4,112	53,966±1,865
Кровь (5 мл) + СК (100%)	925,364±12,517*	55,631±4,227*	83,634±1,201*	62,837±0,512*
Кровь (5 мл) + 0,0033 мл ДНКЖ	819,756±10,374	40,012±1,118	75,786±2,649	54,187±3,020
Кровь (5 мл) + 0,05 мл ДНКЖ	912,638±21,064*	45,276±1,303*	76,023±3,012	55,011±3,347
Кровь (5 мл) + 0,1 мл ДНКЖ	917,450±20,103*	47,382±2,056*	89,379±4,214*	62,353±0,498*
Кровь (5 мл) + 0,2 мл ДНКЖ	734,826±14,020*	24,367±1,151*	62,125±2,038*	46,218±2,035*
Кровь (5 мл) + 1 мл ДНКЖ	665,838±9,064*	22,138±0,946*	59,648±3,422*	43,297±2,185*

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

Таким образом, высокие концентрации ДНКЖ и NO от разных источников вызвали лактатацидоз, повреждение белков, снижение активности ферментов, токсемию, гипергликемию, повреждение мембран эритроцитов, интенсификацию ПОЛ, повышение концентрации МДА, повреждение митохондрий, дезэнергизацию клетки. Газообразный NO в концентрации 20 ppm и 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 (табл. 13).

Таблица 13

Дозозависимое действие NO на клетки и ткани

Тип NO	Доза		Эффект
газообразный NO	NO _{min} NO _{max}	«Плазон»	<ul style="list-style-type: none"> - лактатацидоз - повреждение белков - ↓ активности ферментов - токсемия - гипергликемия - повреждение мембран эритроцитов - ↑ ПОЛ, МДА - повреждение митохондрий - дезэнергизация клетки
		высокая	
	100 ppm		
	ДНКЖ		
1 мл			
газообразный NO	20 ppm		<ul style="list-style-type: none"> - ↑ антиоксидантных ресурсов - гипогликемия - ↑ детоксикационной функции - антигипоксический эффект (↓ лактата) - регуляция клеточных процессов
	ДНКЖ	0,05 мл	
		0,1 мл	

В работе выявлен дозозависимый положительный эффект действия имеющихся мощностей аппарата генерации СК на биохимические показатели консервированной крови. Высокие концентрации СК (100% интенсив-

ность) оказали гипогликемический и антигипоксический эффекты, рост КБЭР, активности ЛДГ, АлДГ, антиоксидантных ферментов и ОАА, снижение концентрации МДА (рис. 5). При низкой интенсивности (50%) СК отмечена стимуляция лишь части исследуемых биохимических показателей окислительного и энергетического метаболизма крови, снижение концентрации глюкозы и лактата в крови, рост активности СОД и каталазы, отсутствие статистически значимых изменений активности ЛДГ, АлДГ, ГР, Гл-6-фДГ, концентрации МДА, показателя S, ОАА и концентрации лактата в эритроцитах.

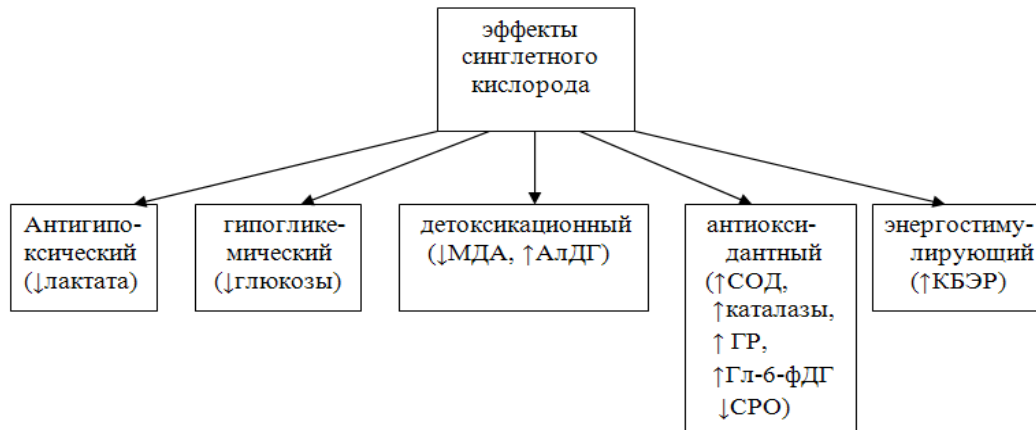


Рис. 5. Биологические эффекты синглетного кислорода

Исходя из полученных результатов, оптимальные биохимические сдвиги (состояние энергетического и окислительного метаболизма крови) наблюдались при использовании ингаляций 20 ppm NO, СК при мощности генератора 100% и ДНКЖ-терапии в концентрации 0,3 мкмоль/л.

Воздействие активных форм кислорода и азота на биохимические показатели крови и органов здоровых крыс

Ингаляция NO была успешно применена в эксперименте и клинике для лечения легочной гипертензии новорожденных, при респираторном дистрессе, предоперационной подготовке (Terpolilli et al., 2013; Brecken et al., 2015; Breatnach et al., 2015). Преимущество ингаляций заключается в том, что лекарственное средство поступает и концентрируется в слизистых оболочках дыхательных путей и альвеолах, всасывание через которые происходит быстрее, чем через желудочно-кишечный тракт. Ингаляция оказывает не только местное действие, но и общее – легко всасываясь и попадая в кровоток, воздействуя тем самым на весь организм в целом (Старателева, 2010). При проведении ингаляций NO часто применяют концентрации от 10 до 40 ppm, время ингаляции при каждой процедуре не превышает 10 минут. При использовании высоких доз ингаляционного NO (иNO) (> 100 ppm) возможно повышение уровня токсичных метаболитов (NO₂) (Grasemann et al., 2015; Pierini, Bryan, 2015). Вышеизложенное открывает перспективу успешного применения ингаляционных препаратов АФК в терапии патологии, в том числе КТТ. Однако для физиологического обоснования применения АФК и АФА необходимо изучить механизмы их эффективности при альтерации функций организма.

В эксперименте на здоровых крысах подтвержден дозозависимый эффект действия газообразного NO на активность антиоксидантных ферментов и немикросомального окисления системы биотрансформации. Ингаляции 100ppm NO вызвали лактатацидоз, гипергликемию, снижение КБЭР в печени, почках, легких и сердце. Под воздействием 20ppm и 50ppm NO отмечено снижение лактата и глюкозы в крови, удельная активность ЛДГпр и ЛДГобр, КБЭР возросли в крови и органах после ингаляций 20ppm NO.

В спектр биомитохондриальной дыхательной цепи (Шумаев и др., 2010; Пожилова, Новиков, 2015; Volacos, Heales, 2010; Gupta et al., 2018). Ингаляции крыс СК, NO (20 ppm) и ДНКЖ-терапия вызвали повышение удельной активности СДГ и цитохром *c* оксидазы в митохондриях всех исследуемых органов (табл. 14).

Таблица 14

Удельная активность сукцинатдегидрогеназы, цитохром *c* оксидазы в митохондриях органов здоровых крыс под влиянием АФК и АФА

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
	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 ($p < 0,05$).

При этом максимальное увеличение активности СДГ после ингаляций 20ppm NO отмечено в легких, после ДНКЖ – в сердце, СК – в печени. Наибольший рост активности цитохром *c* оксидазы под воздействием ДНКЖ и NO (20 ppm) выявлен в почках, после ингаляций СК – в сердце. Ингаляции NO в концентрации 100 ppm вызвали снижение удельной активности СДГ и цитохром *c* оксидазы в митохондриях почек, сердца и легких.

Ингаляции крыс 20ppm NO привели к повышению удельной активности АлДГ в крови (рис. 6) и субклеточных фракциях органов. Максимальный рост активности АлДГ под влиянием ДНКЖ, СК и ингаляции NO (20ppm) отмечен в сердце, минимальный – в легких. Ингаляции крыс NO в концентрации 100 ppm снизили удельную активность АлДГ в крови и субклеточных фракциях органов с наибольшим ингибированием в легких.

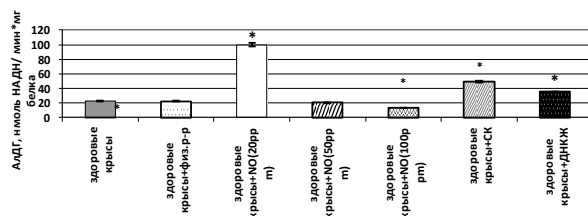


Рис. 6. Удельная активность альдегиддегидрогеназы в крови здоровых крыс под влиянием АФК и АФА. *Примечание:* * - различия статистически значимы по сравнению с здоровыми крысами ($p < 0,05$).

В субклеточных фракциях органов наблюдалось снижение АДГпр/АДГобр под влиянием ингаляций 20ppm NO и повышение АДГпр/АДГобр после ингаляций 100ppm NO, вызывая накопление альдегидов и развитие КС. Показатель светосуммы S был понижен в плазме и эритроцитах при применении 20 ppm NO на фоне повышения ОАА, активности СОД, каталазы, ГР, Гл-6-фДГ (табл. 15). Ингаляции 100 ppm NO обладали прооксидантными свойствами, проявляющимися в активации СРО в почках, сердце и легких с максимальным ростом МДА в сердце, показателя S – в легких. Выявлено разнонаправленное изменение ОАА, активности каталазы, ГР, повышение СОД (максимальное – в легких, минимальное – в печени) и снижение Гл-6-фДГ в субклеточных фракциях органов крыс под влиянием 100 ppm NO. Экзогенный NO способен прочно связывать простатические группы гема и сульфатные комплексы железа в энзимах (Осипов и др., 2007), что может привести к активации или ингибированию ферментов.

ДНКЖ в концентрации 0,3 мкмоль/л и ингаляции СК при мощности генератора 100% снизили уровень лактата и глюкозы в крови, повысили КБЭР, активность ОАА, СОД, каталазы, ГР и Гл-6-фДГ, АлДГ, АДГпр, АДГобр, привели к уменьшению АДГпр/АДГобр, концентрации МДА в субклеточных фракциях паренхиматозных органов. Под влиянием СК максимальный рост активности АлДГ и каталазы отмечен в сердце, СОД, ГР, Гл-6-фДГ – в легких, ОАА – в почках. Максимальное снижение МДА у крыс под влиянием СК выявлено в почках, показателя S – в печени.

Следовательно, в экспериментах *in vivo* на здоровых крысах подтвержден благоприятный эффект воздействия продолжительностью 10 дней на биохимические показатели крови и органов 20ppm NO, ингаляции СК мощностью 100%, 0,3 мкмоль/л ДНКЖ, обладающих гипогликемическим, антигипоксическим, детоксикационным и антиоксидантным действием (табл. 16).

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 ₂ О ₂ /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
здоровые крысы + физ. р-р	0,719±0,008	1036,953±14,107	39,507±0,104	96,007±1,508	40,605±0,527
здоровые крысы + NO (20 ppm)	0,882±0,010*	2341,914±9,856*	65,933±1,022*	163,282±5,779*	74,976±2,023*
здоровые крысы + NO (50 ppm)	0,729±0,007	1148,707±12,008*	37,763±0,450	127,491±4,016*	69,451±1,856*
здоровые крысы + NO (100 ppm)	0,774±0,013*	1087,220±10,154*	33,461±0,328*	81,035±1,121*	28,887±0,953*
здоровые крысы + СК	0,953±0,020*	1634,071±20,113*	55,760±1,403*	144,590±3,716*	63,220±2,047*
здоровые крысы +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).

Таблица 16

Применение АФК и АФА (схема назначения АФК и АФА)

АФК	Концентрация / доза	Длительность применения
NO (газообразный)	20 ppm	10 дней
СК	100%	10 дней
ДНКЖ	0,3 мкмоль (0,1 мл)	10 дней

Хроническое воздействие активных форм кислорода и азота на каталитические свойства оксидоредуктаз здоровых крыс

Целью хронических воздействий АФК и АФА явилось установление характера и степени выраженности их лечебного или повреждающего действия на организм экспериментальных животных по изучению активности ферментов антиоксидантной защиты и немикросомального окисления системы биотрансформации, морфологическим изменениям тканей легких. При этом решались задачи определения переносимых и токсических концентраций АФА, выявление наиболее чувствительных органов и систем организма, изучение обратимости вызываемых АФК биохимических изменений для последующего использования оптимальных концентраций при экспериментальном травматическом стрессе, оценка их кумулятивного эффекта.

30-дневное применение NO в концентрации 20ppm привело к повышению ОАА, активности СОД, каталазы, ГР и Гл-6-фДГ на системном (кровь) и клеточном (эритроциты и субклеточные фракции органов) уровне и незначительной стимуляции СРО в субклеточных фракциях печени, почек и сердца, которые нормализовались спустя 60 суток после воздействия NO. NO ингибирует опосредуемые Fe³⁺ окислительные реакции, проявляя антиоксидантное действие. Характер влияния NO на различные биохимические и физиологические процессы определяется при взаимодействии NO с биомолекулами. Мишенями прямого действия NO являются Cu и Zn, входящие в состав ферментов, в частности, СОД и высокоэнергетические свободные радикалы. NO обратимо связывается с гемовым железом оксигемоглобина, гуанилатциклазы, циклооксигеназы, каталазы, цитохрома P-450 и пероксидаз, цитохромов

электронтранспортной цепи митохондрий, в результате активность железосодержащих ферментов увеличивается (Малахов и др., 2009). Благодаря прямому действию NO осуществляются его регуляторные и сигнальные функции. Непрямое действие NO опосредуется через его реактивные формы, являющиеся продуктом реакции NO с O_2 , O_2^- или H_2O_2 (Zielonka et al., 2012).

Ингаляции NO на протяжении 30 суток в концентрациях 50ppm и 100ppm оказали стимулирующее влияние на прооксидантный статус и ингибирующее – на антиоксидантное состояние крови и органов. В условиях длительной NO интоксикации могут быть нарушения в биологических мембранах, связанные с изменением их проницаемости, ионного транспорта и физико-химических свойств мембранных белков и липидов, активности мембранно-связанных ферментов (Стряпко, 2015). Через 60 суток после ингаляций 50ppm и 100ppm NO на фоне нормализации СРО и ОАА в крови активность СОД, каталазы была повышена, представляя адаптивное изменение в ответ на хроническое действие NO. Таким образом, изменение про- и антиоксидантного баланса при длительном применении 50ppm и 100ppm NO является одной из причин ослабления сопротивляемости организма.

В эритроцитах и органах удельная активность АДГ возросла после 30-дневных ингаляций NO (20ppm), СК и снизилась под влиянием 50 ppm и 100 ppm NO, но нормализовалась в субклеточных фракциях печени, почек, сердца, легких спустя 60 суток после ингаляций низких и высоких концентраций NO. Ингаляции (30 суток) NO в концентрации 50ppm и 100ppm привели к необратимому под влиянием 100ppm NO снижению удельной активности АДГпр, АДГобр и повышению АДГпр/АДГобр в органах (табл. 17).

Установлено повышение удельной активности СДГ и цитохром *c* оксидазы в митохондриях органов после 30-дневных ингаляций NO (20 ppm) и СК с последующей нормализацией через 60 суток. Высокие концентрации NO 50ppm и 100ppm через 30 суток, напротив, необратимо ингибировали ферменты дыхательной цепи митохондрий в органах. Из-за нарушений на цитохромном участке энергетическая эффективность работы дыхательной цепи уменьшается, как и способность формировать срочные адаптационные механизмы (Лукьянова и др., 2018).

Длительное воздействие (30 суток) NO в концентрации 20 ppm и СК привело к повышению удельной активности ЛДГпр, ЛДГобр и КБЭР в субклеточных фракциях печени, почек, сердца, легких, снижению глюкозы и лактата в плазме и эритроцитах (рис. 7), свидетельствуя о стимуляции энергетического метаболизма, показатели которого нормализовались через 60 суток. Высокие концентрации NO (50 ppm и 100 ppm) при длительном их применении (30 суток) привели к снижению удельной активности ЛДГпр, ЛДГобр и КБЭР в органах, росту концентрации глюкозы и лактата, которому может способствовать снижение перфузии ткани, уменьшение содержания кислорода в крови. В восстановительном периоде (60 суток) после отмены NO (100ppm) в крови сохранились признаки гипергликемии и лактатацидоза, в органах снижен КБЭР, после применения 50ppm NO уровень глюкозы и лактата, активность ЛДГ нормализовались.

Удельная активность алкогольдегидрогеназы (нмоль НАДН/мин×мг белка)
в гомогенате органов здоровых крыс при хроническом воздействии NO

Орган	Условия эксперимента		АДГпр	АДГобр	АДГпр/АДГобр
Печень	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*	
Почки	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**	
Сердце	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*/**	
Легкие	Интактные крысы		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*	

Примечание: * - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p < 0,05$); ** - различия статистически значимы по сравнению с 30 сутками ($p < 0,05$).

Выявленную гипергликемию под влиянием высоких концентраций NO (50 ppm, 100 ppm) можно рассматривать как энергетическое подкрепление адаптационных ресурсов крови на длительное применение NO в результате активации гликолиза, глюконеогенеза и гликогенолиза. Рост уровня глюкозы под влиянием NO, вероятно, обусловлен угнетением активности глицеральдегидфосфатдегидрогеназы. Газообразный NO, как стресс-фактор, может активировать гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальную систему, воздействующую на выработку глюкокортикоидов и катехоламинов (Гольдзон и др., 2010). Глюкокортикоиды стимулируют печеночный глюконеогенез с увеличением образования глюкозы из аминокислот и жирных кислот (Гриневич и др., 2003). Катехоламины, активируя фосфоорилазу, ускоряют процессы гликогенолиза и выделение глюкозы, особенно из печени, в системный кровоток. Нельзя исключить цитотоксического воздействия АФК на клетки поджелудочной железы, которые обладают слабой антиоксидантной активностью и подвержены действию NO (Меньщикова и др., 2008). Дисфункция поджелудочной железы

способствует снижению выработки инсулина и повышению глюкозы в крови. Снижение распада глюкозы может привести к накоплению лактата.

Ингаляционно-наружное применение СК через 30 суток привело к снижению СРО в крови с последующей нормализацией СРО спустя 60 суток в эритроцитах, необратимо активировало ОАА, активность СОД, каталазы, ГР и Гл-6-фДГ в субклеточных фракциях печени и почек. Участие СК в процессах СРО обусловлено, вероятно, способностью СК внедряться по месту двойных связей в молекулы полиненасыщенных жирных кислот с образованием гидропероксидов (Синглетно-кислородная терапия ..., 2007). Пусковые механизмы действия АФК на клетку реализуются через прямое (посредством включения кислорода в электрон-транспортные сети митохондрий), опосредованное (через свободнорадикальные механизмы) и рефлекторное (через рецепторы) влияние (Стряпко, 2015).

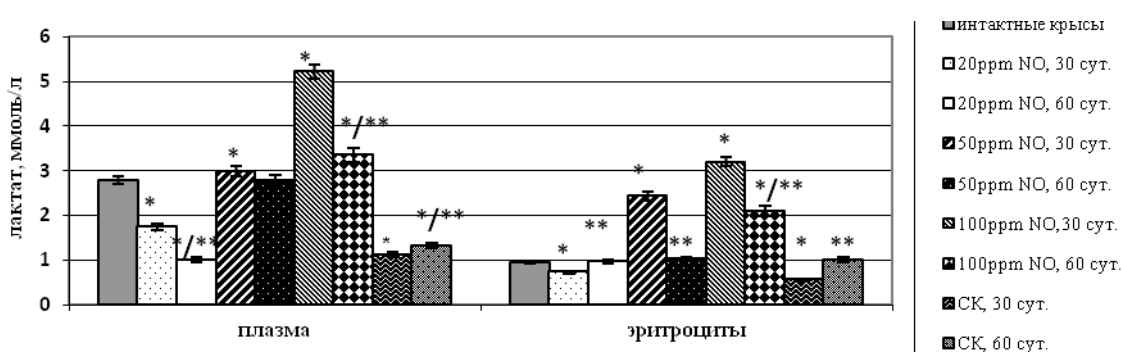


Рис. 7. Концентрация лактата в крови здоровых крыс при хроническом воздействии АФК и АФА. *Примечание:* * - различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами ($p < 0,05$); ** - различия статистически значимы по сравнению с 30 сутками ($p < 0,05$).

Длительные ингаляции NO в концентрации 20ppm способствовали умеренной физиологической активации оксидоредуктаз в крови и органах, которая нормализовалась через 60 после прекращения ингаляций. Ингаляции NO в высоких концентрациях (50 ppm и 100 ppm) оказали негативное влияние на окислительный и энергетический метаболизм крови и органов, показатели которого нормализовались через 60 суток после применения 50 ppm и не восстановились после прекращения воздействия 100 ppm. Таким образом, в условиях хронического эксперимента подтвержден дозозависимый эффект действия NO с оптимальными для ингаляционного применения NO концентрациями – 20 ppm. Показано, что 30-дневное воздействие газовой смеси, содержащей СК, в крови и тканях органов оказало детоксикационный и гипогликемический эффект, привело к снижению концентрации лактата, прооксидантного статуса и повышению антиоксидантной защиты и энергетического метаболизма. Отдаленные результаты (60 суток) ингаляционно-наружного применения СК свидетельствовали о нормализации биохимических показателей окислительного и энергетического метаболизма в крови и органах.

Состояние ферментов биотрансформации крови и тканей под воздействием активных форм кислорода и азота при КТТ

Исследование влияния АФК и АФА на состояние ферментов биотрансформации крови и тканей при КТТ выявило повышение удельной ак-

тивности СОД в органах под влиянием АФК с максимальным активирующим эффектом NO (как ДНКЖ, так и газообразного NO). Увеличение активности СОД под влиянием NO, а также тот факт, что в норме в клетках и тканях организма концентрации СОД на два порядка превышают концентрации NO, создает препятствие для образования ONOO⁻. Ингаляции NO при КТТ активировали ГР в субклеточных фракциях сердца и легких, каталазу – в сердце и печени. После ингаляций СК при КТТ наблюдалась нормализация активности Гл-6-фДГ и каталазы в митохондриях почек и легких, ГР – в печени (табл. 18). Повышение активности Гл-6-фДГ под влиянием АФК можно считать показателем активизации пентозофосфатного пути как компенсационного механизма при угасании гликолиза, протекающего по пути Эмбдена-Мейергофа. Применение АФК при КТТ способствовало повышению V_{max}/K_t СОД, каталазы, ГР и Гл-6-фДГ в печени, почках, сердце, легких крыс с КТТ с максимальным ростом V_{max}/K_t для СОД и Гл-6-фДГ в субклеточных фракциях легких, для каталазы и ГР – в сердце.

Таблица 18

Удельная активность антиоксидантных ферментов в митохондриях органов крыс с комбинированной термической травмой после воздействия АФК и АФА

Орган	Условия эксперимента	СОД, %инг/мин ×мг белка	Каталаза, мкмольН ₂ О ₂ /мин×мг белка	ГР, нмоль НАДФН /мин×мг белка
Печень	Здоровые крысы	1577,134±28,831	19,025±1,011	9,554±0,554
	КТТ, 10 суток	1300,00±34,093*	13,083±1,123*	4,352±0,119*
	КТТ+физ.р-р, 10сут.	1302,11±29,745*	12,957±1,038*	4,348±0,108*
	КТТ+ДНКЖ	1852,353±17,946*/**	36,598±1,094*/**	13,258±0,794*/**
	КТТ+ NO	2084,509±36,652*/**	93,751±4,085*/**	14,265±1,378*/**
	КТТ+СК	1428,63±25,367*/**	40,382±2,861*/**	10,017±0,564**
Почки	Здоровые крысы	932,174±30,021	24,015±2,004	37,072±2,004
	КТТ, 10 суток	893,857±17,058	15,334±1,067*	23,996±1,044*
	КТТ+физ.р-р, 10сут.	891,946±16,723	15,026±1,185*	22,877±1,516*
	КТТ+ДНКЖ	1086,883±42,064*/**	22,868±1,754**	57,867±6,234*/**
	КТТ+ NO	1936,806±26,372*/**	22,065±2,037**	36,305±3,128**
	КТТ+СК	915,687±18,456	19,537±1,649**	27,865±2,095*
Сердце	Здоровые крысы	1574,752±27,859	11,174±0,907	26,613±1,018
	КТТ, 10 суток	1093,222±32,439*	6,688±0,287*	19,449±1,054*
	КТТ+физ.р-р, 10сут.	1090,634±29,879*	6,690±0,195*	18,695±1,032*
	КТТ+ДНКЖ	1818,18±16,493*/**	13,260±0,694**	26,573±2,094**
	КТТ+ NO	1838,896±35,274*/**	19,744±1,658*/**	31,557±0,869*/**
	КТТ+СК	1234,860±27,352*/**	10,186±0,793**	24,283±2,795
легкие	Здоровые крысы	814,027±12,334	16,917±0,352	23,133±1,204
	КТТ, 10 суток	598,723±30,054*	11,817±0,113*	21,143±1,115
	КТТ+физ.р-р, 10сут.	599,016±29,874*	11,534±0,211*	20,986±1,223
	КТТ+ДНКЖ	1750,00±29,596*/**	13,260±0,574*	59,927±4,038*/**
	КТТ+ NO	1746,954±37,813*/**	12,267±1,853*	30,349±2,156*/**
	КТТ+СК	963,875±20,142*/**	15,837±0,942**	22,967±1,058

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 и оценке концентрации МДА ингаляции NO, СК, ДНКЖ-терапия, а также совместное применение ДНКЖ и ингаляций NO при КТТ привели к снижению СРО в крови, печени, почках, сердце и легких по сравнению с показателями крыс с КТТ без лечения. Минимальное снижение СРО в органах при КТТ выявлено под влиянием совме-

стного применения ДНКЖ и ингаляций NO. Максимальное ингибирование СРО при КТТ отмечено под влиянием ДНКЖ. NO может замедлять ПОЛ, действуя как скавенджер кислородных радикалов, эффективно перехватывая $O_2^{\cdot-}$, OH^{\cdot} , ROO^{\cdot} , тиольный (GS^{\cdot}) (Гудков и др., 2007).

В работе отмечен рост активности СДГ и цитохром *c* оксидазы под влиянием АФК при КТТ. Органы по степени активации СДГ под влиянием АФК при КТТ располагались: легкие > сердце > почки > печень, по степени активации цитохром *c* оксидазы: почки > печень > сердце > легкие. Максимальный рост активности СДГ при КТТ отмечен после ингаляций СК, наибольшее увеличение цитохром *c* оксидазы – под влиянием иNO.

Показано снижение лактата и глюкозы в крови при КТТ под влиянием АФК, способствуя нормализации углеводного метаболизма и активации аэробного гликолиза. Воздействие ДНКЖ, ингаляций NO, СК, совместное применение газообразного и депонированного NO привело к повышению удельной активности АДГпр, АДГобр, сродства АДГ к субстратам реакции и V_{max}/K_t в крови и субклеточных фракциях органов. Под воздействием АФК при КТТ выявлено повышение удельной активности АДГобр в субклеточных фракциях органов и нормализация АДГпр/АДГобр в почках, легких и сердце.

В эритроцитах и субклеточных фракциях печени, почек, сердца и легких крыс с КТТ выявлена активация АлДГ под влиянием АФК, наиболее выраженная в эритроцитах при воздействии газообразного NO и менее выраженная при совместном использовании ДНКЖ и иNO (рис. 8). Максимальный рост удельной активности АлДГ при КТТ под влиянием ДНКЖ, ингаляций СК, NO, ДНКЖ и газообразного NO выявлен в митохондриях органов.

В результате применения СК и NO происходит: активация биохимических и биофизических реакций; стабилизация аэробного обмена; нормализация антиоксидантных функций организма; улучшение тканевого дыхания; снижение гипоксии и уровня молочной кислоты; восстановление ионной проницаемости мембран клеток; дезинтоксикация организма (Самосюк и др., 2004). СК участвует в образовании и рекомбинации в клетке других АФК, которые в малых дозах способствуют повышению устойчивости и нормализации жизнедеятельности клетки и организма в целом (Улащик, 2013).

Показано, что основной физиологический донор NO, содержащий тиолатные лиганды $((NO)_2Fe(RS)_2)$, способен передавать NO на другую молекулу при взаимодействии комплекса с эффективными хелаторами железа под действием АФК, связывающихся с тиолатными лигандами. Возможно, лиганды в ДНКЖ являются структурами, обеспечивающими взаимодействие комплекса с физиологической мишенью (Титов и др., 2017).

Следующим этапом нашего исследования было выяснение возможного механизма активирующего действия NO (на примере ДНКЖ) на активность АлДГ. С этой целью проведено три серии экспериментов с тетурамом (N,N,N,N-тетраэтилтиурамдисульфидом), ингибитором АлДГ. Добавление тетурама к консервированной крови перед ДНКЖ не привело к росту активности АлДГ. Введение интактным крысам тетурама конкурентно ингибировало ($K_t^1 > K_t^0$, $V^1 = V^0$) АлДГ. Под влиянием ДНКЖ в эритроцитах здоровых

микроциркуляцию, стимулировали работу дыхательной цепи митохондрий. Учитывая способность АФК выступать в роли как антиоксидантов, так и прооксидантов, активировать оксидоредуктазы, участвующие в нормализации энергетического метаболизма, как по пути гликолиза, так и окислительного фосфорилирования, очевидна эффективность действия АФК как компонентов фармакотерапии при лечении ОС, развивающегося при КТТ.

Механизм действия АФК при КТТ представлен на рисунке 8.

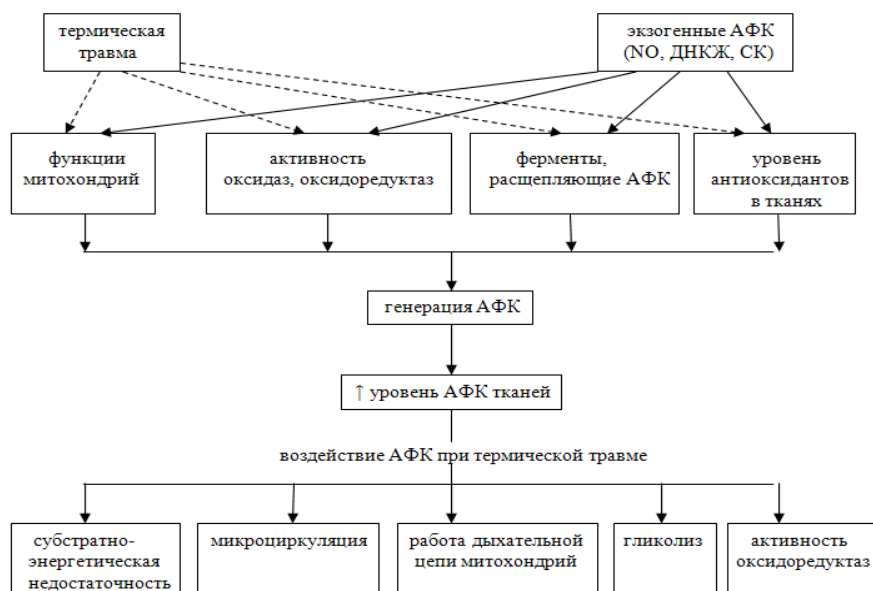


Рис. 8. Механизм действия АФК при термической травме (----→ - ингибирующее влияние, → - активирующее влияние).

Влияние ингаляций синглетного кислорода на биохимические показатели крови больных с термической травмой

Выявлен благоприятный эффект 10-дневного курса ингаляций СК больных с ТТ, проявившийся в нормализации окислительно-восстановительного баланса крови (табл. 20).

Таблица 20

Показатели окислительного и энергетического метаболизма в крови пациентов с ТТ после ингаляций СК

Показатели	Условия эксперимента		
	Здоровые люди	ТТ	ТТ+СК
S в плазме, усл.ед.	9,952±0,561	15,193±0,764*	10,758±0,643**
S в эритроцитах, усл.ед.	8,614±0,253	10,895±0,463*	8,257±0,083**
МДА в плазме, мкмоль/л	1,024±0,023	1,586±0,131*	0,927±0,048**
МДА в эритроцитах, мкмоль/л	6,003±0,071	6,517±0,284*	6,348±0,114*
tg2α, усл.ед.	0,748±0,021	0,662±0,010*	0,725±0,008**
СОД, %инг./мин×мг белка	917,450±9,246	628,193±12,104*	1078,689±16,075*/**
Каталаза, мкмольН ₂ О ₂ /мин×мг белка	41,823±4,657	28,544±1,263*	39,725±2,705**
ГР, нмоль НАДФН/мин×мг белка	79,273±3,856	62,137±1,125*	64,319±2,036*
Гл-6-фДГ, нмоль НАДФН/мин×мг белка	52,384±3,571	31,639±1,214*	35,091±2,207*
ЛДГ пр, нмоль НАДН/мин×мг белка	76,892±4,365	52,136±2,205*	69,879±3,023**
ЛДГ обр, нмоль НАДН/мин×мг белка	315,325±14,087	264,783±9,015*	303,146±11,095**
КБЭР	5,949±0,483	3,879±0,355*	5,325±0,296**
Лактат в плазме крови, ммоль/л	1,65±0,45	2,97±0,38*	1,86±0,29**
Глюкоза в плазме крови, ммоль/л	4,03±1,18	6,99±0,42*	5,78±1,09
АлДГ, нмоль НАДН/мин×мг белка	22,673±3,018	5,846±0,235*	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).

Светосумма S снизилась в плазме и эритроцитах на 29,19% ($p=0,033$) и 24,21% ($p=0,038$), концентрация МДА в плазме уменьшилась на 41,56% ($p=0,039$) по сравнению с показателями ПОЛ в крови пациентов с ТТ без лечения. Ингаляции СК привели к нормализации ОАА в плазме крови, повышению активности АлДГ, СОД и каталазы в эритроцитах в 2,32 раза ($p<0,001$), на 71,71% ($p=0,025$) и 39,17% ($p=0,031$), нормализации уровня лактата вследствие роста активности ЛДГпр и ЛДГобр на 34,03% ($p=0,032$) и 14,49% ($p=0,041$) соответственно и повышения КБЭР на 37,28% ($p=0,026$). Активирование СОД, каталазы, ЛДГ, АлДГ в эритроцитах после ингаляций СК при ТТ обусловлено снижением Kt, ростом Vmax и Vmax/Kt (табл. 21).

Таблица 21

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*/**
	Vmax, мкмоль/мин	7,94±0,15	5,24±0,21*	7,23±0,12*/**
	Vmax/Kt, мкмоль/мин ²	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**
	Vmax, мкмоль/мин	7,99±1,12	5,28±0,33*	6,53±0,28**
	Vmax/Kt, мкмоль/мин ²	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**
	Vmax, мкмоль/мин	8,21±0,75	5,13±0,12*	5,34±0,12*
	Vmax/Kt, мкмоль/мин ²	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
	Vmax, мкмоль/мин	6,88±0,73	4,27±0,11*	6,56±0,48**
	Vmax/Kt, мкмоль/мин ²	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**
	Vmax, мкмоль/мин	10,87±1,13	6,34±1,10*	8,75±0,63**
	Vmax/Kt, мкмоль/мин ²	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**
	Vmax, мкмоль/мин	9,97±1,24	5,68±0,59*	7,28±0,34*/**
	Vmax/Kt, мкмоль/мин ²	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*/**
	Vmax, мкмоль/мин	6,04±0,35	4,37±0,45*	5,83±0,72**
	Vmax/Kt, мкмоль/мин ²	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 ($p<0,05$).

Под влиянием СК выявлено снижение Kt для ГР на 39,58% ($p=0,007$) и повышение Vmax/Kt для ГР на 72,47% ($p=0,010$). Для реакции, катализируемой Гл-6-фДГ, после ингаляций СК отмечено повышение Vmax на 53,63% ($p=0,014$) и Vmax/Kt на 47,17% ($p=0,010$).

**Концентрация нитритов и нитратов в крови и органах крыс
под воздействием оксида азота в норме и при КТТ**

Выявлено повышение концентрации стабильных конечных метаболитов NO в крови (табл. 22), что может быть вызвано активацией индуцибельной NO-синтазы, которая отмечается у больных с тяжелой сочетанной травмой и играет важную роль в патогенезе экстремальных состояний (Пожилова, Новиков, 2015; Forstermann, Sessa, 2012). Нитриты в крови взаимодействуют с гемоглобином, окисляя двухвалентное железо до нитрозогемоглобина, трансформирующегося в метгемоглобин и частично в сульфгемоглобин. Метгемоглобин не может обратимо связывать кислород, в результате снижа-

ется кислородная емкость крови и развивается гипоксия, накапливается молочная кислота, холестерин и резко падает количество белка (Каримов, 2010), что наблюдается при КТТ (Термические и ..., 2017; Kovalenko, 2015; Jacob et al., 2017). С другой стороны, гиперпродукцию NO можно рассматривать как компенсаторно-приспособительную реакцию в условиях развивающейся при КТТ гипоксии, направленную на усиление кровотока, поскольку NO является мощным вазодилататором.

Таблица 22

Содержание метаболитов монооксида азота в плазме крови крыс

Условия эксперимента	NO ₂ ⁻ +NO ₃ ⁻ (NO _x), μM	NO ₂ ⁻ , μM	NO ₃ ⁻ , μM
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 (p<0,05) с КТТ на соответствующие сутки (p<0,05).

Наибольшее падение уровня NO_x, NO₂⁻ и NO₃⁻ при КТТ выявлено в почках (основной путь выведения нитратов), затем – в печени, легких и сердце (табл. 23). Максимальное снижение суммарных конечных продуктов деградации NO происходило на 1 сутки после КТТ. Следует отметить, что наибольшее уменьшение уровня NO_x и нитратов при КТТ было в цитоплазматической фракции органов, меньшее – в митохондриях органов.

Таблица 23

Содержание метаболитов монооксида азота в гомогенате почек крыс

Условия эксперимента	NO ₂ ⁻ +NO ₃ ⁻ , μM	NO ₂ ⁻ , μM	NO ₃ ⁻ , μM
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 (p<0,05) с КТТ на соответствующие сутки (p<0,05).

Наблюдаемое в проведенном исследовании уменьшение концентрации NO_x, NO₂⁻ и NO₃⁻ в субклеточных фракциях органов крыс при КТТ может быть обусловлено снижением экспрессии NO-синтаз под действием липопротеинов низкой плотности, высоких концентраций глюкозы, ишемии (Villanueva, Giulivi, 2010), уменьшением количества L-аргинина (Vallance et al., 1992), нарушением нитрит-редуктазных механизмов синтеза молекулы NO (Реутов и др., 1994), снижением активности цитохром с оксидазы (Новиков и др., 2014). Среди факторов, влияющих на время жизни NO, можно выделить

активацию СРО, что увеличивает дефицит эндогенного NO за счет его ускоренной деградации под влиянием АФК (Пожилова и др., 2015).

Ингаляции здоровых крыс NO в концентрации 50 ppm и 100 ppm привели к повышению суммарных конечных продуктов деградации NO, нитритов и нитратов в субклеточных фракциях почек, легких и сердца, с преобладающим эффектом воздействия в сердце. У здоровых крыс ингаляции 20 ppm NO только в сердце вызвали повышение продуктов деградации NO. Следует отметить активирующий эффект ингаляций NO на уровень NO_x , NO_2^- и NO_3^- в сердце, почках и легких, зависящий от концентрации NO: чем выше концентрация иNO, тем выше уровень NO в тканях.

Введение ДНКЖ здоровым крысам стимулировало образование NO_x , NO_2^- и NO_3^- в органах, наиболее выраженное в легких. Применение ДНКЖ и ингаляций NO (20 ppm) при КТТ привело к повышению уровня суммарных стабильных конечных метаболитов NO, нитритов и нитратов в гомогенате, цитоплазматической и митохондриальной фракциях органов. Наиболее выраженный активирующий эффект ДНКЖ при КТТ обнаружен в почках, под влиянием ингаляций NO – в легких. Таким образом, определение концентрации NO в крови и тканях органов при КТТ может иметь прогностическую ценность в контроле за лечением под влиянием АФА.

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 с 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 АДГпр/АДГобр 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 и NO, 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 и NO 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: и NO 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 ГТ 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 работ Соловьевой А.Г., опубликованных по теме диссертации
Статьи в изданиях, рекомендованных ВАК РФ и зарубежных журналах**

1. Хрулев С.Е., Зимин Ю.В., Соловьева А.Г., Размахов А.М., Лузан А.С. Активность лактатдегидрогеназы в митохондриальной фракции мозга крыс при введении нейромидина после термической травмы // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2008. – Т.145, №6. – С. 626-627.
2. Соловьева А.Г. Перекисное окисление липидов и активность альдегиддегидрогеназы в эритроцитах при термической травме // Вестник РГМУ. – 2009. – №3. – С.70.
3. Воробьев А.В., Мартусевич А.К., Соловьева А.Г., Размахов А.М., Лузан А.С., Дмитриев А.Д. Некоторые физико-биохимические свойства биологических жидкостей крыс при модельной термической травме // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2009. – Т.147, №4. – С. 404-406.
4. Соловьева А.Г., Зимин Ю.В., Размахов А.М. Кинетические особенности альдегиддегидрогеназы печени крыс при холодовой травме // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2009. – Т. 147, №8. – С. 154-156.
5. Зимин Ю.В., Соловьева А.Г. Регуляторная роль надмолекулярного комплекса алкогольдегидрогеназы и лактатдегидрогеназы митохондрий клетки // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2009. – Т. 147, №12. – С. 644-646.
6. Соловьева А.Г. Роль альдегиддегидрогеназы печени и эритроцитов в развитии ожоговой токсемии у крыс // Вестник РАМН. – 2009. – №9. – С. 36-39.
7. Соловьева А.Г. Ферменты детоксикации в почках крыс при термической травме // Вестник РГМУ. – 2010. – №2. – С. 554-555.
8. Соловьева А.Г. Субстратная специфичность частично очищенного препарата альдегиддегидрогеназы из печени крыс в норме и при термической травме // Медицинский академический журнал. – 2010. – Т. 10, №5. – С. 64.
9. 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.
10. 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.
11. Соловьева А.Г., Мартусевич А.К., Перетягин С.П. Трансформация некоторых параметров физико-биохимического гомеостаза крови в раннем периоде ожоговой болезни // Клиническая лабораторная диагностика. – 2012. – №9. – С. 77-78.

12. Перетягин С.П., Мартусевич А.К., Соловьева А.Г., Зимин Ю.В., Перетягин П.В. Энзимологическая оценка гепатотропного действия озона в субхроническом эксперименте // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2012. – Т. 154, №12. – С. 758-761.
13. Соловьева А.Г., Зимин Ю.В., Перетягин С.П., Диденко Н.В., Мартусевич А.К., Ларионова К.Д. Изучение состояния ферментных систем печени как показателя эффективности местного лечения ожоговой травмы в эксперименте // Современные технологии в медицине. – 2013. – Т. 5, №2. – С. 20-24.
14. 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.
15. Мартусевич А.К., Перетягин С.П., Соловьева А.Г., Ванин А.Ф. Оценка некоторых молекулярных эффектов газообразного оксида азота на кровь человека *in vitro* // Биофизика. – 2013. – Т. 58, №5. – С. 871-875.
16. Соловьева А.Г., Мартусевич А.К., Перетягин С.П. Модификация энергетического метаболизма крови при действии физических факторов // Медицинский альманах. – 2013. Т. 27, №3. – С. 85-87.
17. Соловьева А.Г. Особенности каталитических и кинетических свойств альдегиддегидрогеназы в жизненно важных органах при экспериментальной термической травме // Биомедицина. – 2013. – №3. – С. 74-81.
18. Мартусевич А.К., Соловьева А.Г., Перетягин С.П. Влияние свободного и депонированного оксида азота на энергетический метаболизм крови // Современные технологии в медицине. – 2013. – Т.5, №4. – С. 33-38.
19. Мартусевич А.К., Мартусевич А.А., Соловьева А.Г., Перетягин С.П. Изучение влияния некоторых активных форм кислорода на физико-химические показатели крови // Биофизика. – 2014. – Т.59, № 2. – С. 369-372.
20. Соловьева А.Г., Мартусевич А.К., Перетягин С.П., Диденко Н.В. Системный анализ метаболического профиля крови пациентов с термической травмой // Вестник РАМН. – 2014. – №1-2. – С. 22-25.
21. Мартусевич А.К., Соловьева А.Г., Перетягин С.П., Ванин А.Ф. Экспериментальная оценка влияния динитрозильных комплексов железа на энергетический метаболизм эритроцитов при термической травме // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2014. – Т.77, №2. – С. 16-20.
22. Мартусевич А.К., Соловьева А.Г., Перетягин С.П., Карелин В.И., Селемир В.Д. Влияние NO-содержащего газового потока на некоторые параметры энергетического метаболизма эритроцитов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2014. – Т. 158, №7. – С. 40-42.
23. Мартусевич А.К., Соловьева А.Г., Перетягин С.П., Давыдюк А.В. Влияние динитрозильных комплексов железа на метаболические параметры крови животных с экспериментальной термической травмой // Биофизика. – 2014. – Т.59, № 6. – С. 1173-1179.
24. Соловьева А.Г., Диденко Н.В., Перетягин С.П., Мартусевич А.К. Прогностическое значение и взаимосвязь некоторых биохимических показателей

- крови в ранний период ожоговой болезни // Клиническая лабораторная диагностика. – 2014. – Т.59, №9. – С. 129.
25. 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. 60-65.
26. Мартусевич А.К., Соловьева А.Г., Ашихмин С.П., Перетягин С.П. Влияние ингаляций оксида азота на состояние окислительного и энергетического метаболизма крови крыс // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2015. – Т.101, №2. – С. 180-188.
27. Мартусевич А.К., Соловьева А.Г., Перетягин С.П., Ванин А.Ф. Сравнительный анализ действия свободного и депонированного NO на состояние про- и антиоксидантных систем крови // Биофизика. – 2015. – Т. 60, № 2. – С. 348-354.
28. Кузнецова В.Л., Соловьева А.Г. Оксид азота: свойства, биологическая роль, механизмы действия // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – №4. URL: <http://www.science-education.ru/127-21037>.
29. Мартусевич А.К., Соловьева А.Г., Давыдюк А.В., Перетягин С.П. Влияние динитрозильных комплексов железа на параметры окислительного метаболизма при экспериментальной термической травме // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2015. – Т.78, №7. – С. 15-19.
30. 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.
31. Давыдюк А.В., Мартусевич А.К., Соловьева А.Г., Каримова Р.Г. Метаболическая адаптация эритроцитарных оксидоредуктаз к воздействию глутатион-содержащих динитрозильных комплексов железа // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2015. – Т.221, №1. – С. 60-64.
32. Кузнецова В.Л., Соловьева А.Г., Перетягин С.П., Преснякова М.В., Мартусевич А.А., Стрелкова И.Г. Изменение биохимических показателей сыворотки крови при субхроническом воздействии оксида азота в эксперименте // Кубанский научный медицинский вестник. – 2015. – Т. 155, №6. – С. 69-73.
33. Мартусевич А.К., Соловьева А.Г., Каримова Р.Г., Плеханова А.Д. Состояние окислительного метаболизма крови крыс с термической травмой при одновременном применении нескольких источников NO // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2015. – Т.223, № 3. – С. 115-119.
34. Мартусевич А.К., Соловьева А.Г., Перетягин С.П. Оценка модификации каталитических свойств альдегиддегидрогеназы эритроцитов крыс в условиях ингаляционного воздействия оксида азота // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2016. – Т. 161, №1. – С. 9-12.

35. Мартусевич А.К., Перетягин С.П., Соловьева А.Г., Мартусевич А.А., Плеханова А.Д. Экспериментальное изучение некоторых системных эффектов ингаляций оксида азота // Биофизика. – 2016. – Т. 61, № 1. – С. 165-171.
36. 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.
37. Соловьева А.Г., Перетягин С.П. Влияние субхронического воздействия ингаляций оксида азота на метаболические процессы в крови экспериментальных животных // Биомедицинская химия. – 2016. – Т. 62, № 2. – С. 212-214.
38. Соловьева А.Г., Кузнецова В.Л., Перетягин С.П., Диденко Н.В., Дударь А.И. Роль оксида азота в процессах свободнорадикального окисления // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2016. – Т. 53, № 1. – С. 228-233.
39. 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.
40. Соловьева А.Г., Перетягин С.П., Диденко Н.В., Дударь А.И. Изменение показателей про- и антиоксидантного баланса крови при хроническом воздействии синглетного кислорода в эксперименте // Вестник новых медицинских технологий. – 2016. – Т. 23, №2. – С. 50-55.
41. Соловьева А.Г. Интегральная оценка оксидативного статуса и детоксикационных систем крови в ранний период после термической травмы // Медицинский алфавит. Современная лаборатория. – 2016. – Т.282, №19. – С. 93-94.
42. Соловьева А.Г., Уланова А.А., Перетягин С.П. Изучение биохимических показателей крови при субхроническом введении озонированного физиологического раствора в эксперименте // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2016. – Т.19, №11. – С. 32-36.
43. Соловьева А.Г., Перетягин С.П., Сазонова И.Е., Дударь А.И. Изменение биохимических показателей крови под влиянием активных форм кислорода на модели ишемии дорзального кожного лоскута // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – Т.103, №5. – 2017. – С. 542-552.
44. Соловьева А.Г., Уланова А.А., Кузьмина Е.И., Кузнецова В.Л. Механизмы протективного действия коэнзима Q₁₀ при экспериментальной термической травме // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2017. – Т. 20, №10. – С. 31-36.
45. Martusevich A.K., Soloveva A.G., Martusevich A.A. Bioregulatory and sanogenic effects of dinitrosyl iron complexes with glutathione ligands at experimental thermal trauma // Journal of Trace Elements in Medicine and Biology. – 2017. – №41. – P.82.
46. Диденко Н.В., Соловьева А.Г., Перетягин П.В. Влияние различных концентраций динитрозильных комплексов железа на активность антиоксидантных ферментов в крови *in vitro* // Известия ВУЗОВ. Прикладная химия и биотехнология. – 2017. – Т.7, №4. – С. 39-45.

47. Соловьева А.Г., Кулакова К.В., Орлинская Н.Ю., Галова Е.А. Исследование биохимических показателей митохондрий печени как маркеров гипоксии при регенерации ожоговой раны после экспериментальной термической травмы // *Современные технологии в медицине.* – 2018. – Vol. 10, № 1. – P. 81-87.
48. Соловьева А.Г., Диденко Н.В., Беляева К.Л. Оценка энергетического и окислительного метаболизма крови при длительном курсе ингаляций оксида азота в эксперименте // *Известия Уфимского научного центра РАН.* – 2018. – Т. 5, №3. – С. 36-42.
49. Мартусевич А.К., Соловьева А.Г., Ковалева Л.К., Мартусевич А.А. Влияние глутатионсодержащих динитрозильных комплексов железа на некоторые параметры метаболизма крови крыс // *Микроэлементы в медицине.* – 2018. – Т. 19, №4. – С. 51-57.
50. Martusevich A.K., Soloveva A.G., Dmitrochenkov A.V., Ezhevskaya A.A., Razumovsky A.V. The Response of Human Erythrocytes to NO-Stimulation // *Annual Research & Review in Biology.* – 2018. – Vol. 26, № 6. – P. 1-11.
51. Мартусевич А.К., Соловьева А.Г., Перетягин С.П. Состояние эритроцитов при различных вариантах NO-стимуляции // *Гены и клетки.* – 2019. – Т. 14, №3. – С. 108-109.

Патенты

1. 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.
2. 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.
3. 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.
4. Перетягин С.П., Перетягин П.В., Мартусевич А.К., Соловьева А.Г., Фролов А.П., Стручков А.А. Устройство для насыщения крови газами // Патент на полезную модель №167710; заявка 2015151571, 01.12.2015. – Оpubл. 10.01.2017. Бюл. №1.
5. 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.
6. Перетягин П.В., Соловьева А.Г., Лузан А.С., Воробьев Е.В., Диденко Н.В. 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.

Монографии

1. Перетягин С.П., Мартусевич А.К., Гришина А.А., Соловьева А.Г., Зимин Ю.В. Лабораторные животные в экспериментальной медицине. Монография. – Н. Новгород: ФГУ «ННИИТО» Минздравсоцразвития России, 2011. – 300с.
2. Мартусевич А.К., Перетягин С.П., Самоделкин А.Г., Соловьева А.Г., Мартусевич А.А., Иващенко М.Н. Биомедицина оксида азота (NO): функционально-метаболические аспекты. – Н. Новгород: ФГБОУ ВО «Нижегородская ГСХА», 2017. – 261 с.

Статьи в других изданиях и материалы конференций

1. Соловьева А.Г. Активность альдегиддегидрогеназы в эритроцитах, тромбоцитах и плазме крови крыс в норме и при ожоге // Успехи современного естествознания. – №12. – 2007. – С. 477-478.
2. Zimin Yu.V., Bochkareva A.V., Solovyeva A.G., Martusevich A.K. Dynamics of lactate dehydrogenase catalytic activity under thermomodification // Bulletin of International Scientific Surgical Association. – 2008. – Vol. 3, №1. – P. 49-50.
3. Соловьева А.Г. Механизм взаимодействия Mg^{2+} с альдегиддегидрогеназой эритроцитов человека // Фундаментальные исследования. – 2008. – №2. – С.57-58.
4. Зимин Ю.В., Соловьева А.Г., Перетягин П.В. Надмолекулярные формы альдегиддегидрогеназы эритроцитов крови человека // IV съезд Российского общества биохимиков и молекулярных биологов – Новосибирск: Изд-во «Арта», 2008. – С. 266.
5. 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.
6. Соловьева А.Г. Активность оксидоредуктаз в почках крыс при комбинированной термической травме // Вестник новых медицинских технологий. – 2009. – Т.16, №2. – С. 156-157.
7. Соловьева А.Г. Детоксикационная система крови в ранний период после ожога // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2010. – Т.29, №1. – С. 121-122.
8. Соловьева А.Г., Перетягин С.П., Зимин Ю.В. Влияние озона на активность оксидоредуктаз печени при комбинированной термической травме // Вестник физиотерапии и курортологии. – 2010. – Т.16, №5. – С. 19.
9. 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.
10. Зимин Ю.В., Соловьева А.Г. Кинетическое сходство молекулярных форм альдегиддегидрогеназы эритроцитов и печени крыс // Фундаментальные исследования. – 2011. – №9. – С. 249-250.
11. Soloveva A.G. Organ specific of rats aldehyde dehydrogenase for burns // International Journal of Applied And Fundamental Research. – 2013. – №2. – URL: www.science-sd.com/455-24201.
12. Soloveva A.G., Martusevich A.K., Peretyagin S.P. Modification of the blood energy metabolism under some physical factors action // Revista Espanola de Ozonoterapia. – 2013. – Vol. 3, No 2. – P. 36.
13. Зимин Ю.В., Соловьева А.Г., Уланова А.А. Оценка кинетических параметров ферментов в гетерогенной надмолекулярной системе // Фундаментальные исследования. – 2013. – №2. – С. 68-71.
14. Соловьева А.Г. Органоспецифические регуляторные свойства алкогольдегидрогеназы при экспериментальной термической травме // Успехи современного естествознания. – 2014. – № 9. – С. 28-32.
15. Soloveva A.G., Dudar A.I. The state of metabolism in organs of rats with combined thermal injury. – Yelm, WA, USA: Science Book Publishing House, 2015. – P. 92-96.

16. Соловьева А.Г. Влияние ингаляций оксида азота на биохимические показатели крови при экспериментальной термической травме // Амурский медицинский журнал. – 2015. – Т. 12, №4. – С. 181-183.
17. Martusevich A.K., Samodelkin A.G., Soloveva A.G., Karimova R.G., Plekhanova A.D. Experimental study of Erythrocytes energy metabolism under inhalations of nitric oxide // Asian Journal of Biochemical and Pharmaceutical Research. – 2015. – Vol. 5, № 2. – P. 130-135.
18. Soloveva A.G. The subchronic toxicity of different concentrations of reactive oxygen species and blood metabolism in the experiment // European Journal of Natural History. – 2016. – №4. – P. 8-11.
19. Соловьева А.Г. Исследование каталитических и кинетических свойств лактатдегидрогеназы в органах при экспериментальной термической травме // Acta Naturae / Спецвыпуск. Т.2. – 2016. – С.190.
20. Соловьева А.Г. Воздействие длительного курса ингаляций синглетного кислорода на активность оксидоредуктаз в крови крыс // Международный научно-исследовательский журнал. – 2016. – Т. 46, №4. – С. 38-40.
21. Martusevich A.K., Razumovsky A.V., Soloveva A.G., Ezhevskaya A.A., Peretyagin S.P. The Study of Postburn Metabolic Rehabilitation with Natural NO Donor // Asian Journal of Biochemical and Pharmaceutical Research. – 2016. – Vol. 6, № 3. – P. 14-21.
22. Soloveva A.G. The assessment of carbohydrate blood metabolism in early period of burn // International Journal of Applied And Fundamental Research. – 2017. – № 3. – URL: www.science-sd.com // 471-25252.
23. Соловьева А.Г. Активность альдегиддегидрогеназы в субпопуляциях митохондрий печени при экспериментальной термической травме // ActaNaturae (Спецвыпуск). – 2017. – С. 145.
24. Soloveva A., Didenko N. The interaction between liver oxidoreductases in experimental thermal injury // Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences; Section B: Biological Sciences. – 2017. – Vol. 7, No. 3. – P. 775-783.
25. Soloveva A.G., Dudar A.I., Kuznetsova V.L., Koryagin A.S. The Effect of Dinitrosyl Iron Complexes in Free Radical Oxidation in Organs of Rats during Hypoxia Caused by Thermal Injury // Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences. – 2018. – Vol.8, №2. – P. 199-209.
26. Соловьева А.Г., Дударь А.И., Голыгина Е.С. Состояние окислительного и энергетического метаболизма крови при термической травме под влиянием воздушно-плазменного потока, содержащего NO // Актуальные вопросы биологической физики и химии. – 2018. – Т.3, №3. – С. 665-668.
27. Soloveva A.G., Peretyagin S.P., Sergienko V.I., Peretyagin P.V., Melnikova N.B., Korobko V.A. The change in the concentration of nitrites and nitrates in blood and organs in experimental combined thermal injury under the influence of dinitrosyl iron complexes // Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences. – 2019. – Vol.9, №4. – P. 584-591.
28. Соловьева А.Г., Сергиенко В.И., Перетягин С.П. Органоспецифические антиоксидантные эффекты действия динитрозильных комплексов железа при ожоге в эксперименте // Биорадикалы и Антиоксиданты. – 2019. – Т.6, №2. – С. 47-57.
29. Соловьева А.Г., Перетягин С.П., Сергиенко В.И. Активность оксидоредуктаз крови при комбинированной термической травме под влиянием воздушно-плазменного потока, содержащего NO // Биорадикалы и Антиоксиданты. – 2019. – Т.6, №2. – С. 58-62.

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
ГР – глутатионредуктаза
ДНКЖ – динитрозильные комплексы железа
КБЭР – коэффициент баланса энергетических реакций
КС – карбонильный стресс
КТТ – комбинированная термическая травма
ЛДГ – лактатдегидрогеназа
ЛДГпр – прямая реакция лактатдегидрогеназы
ЛДГобр – обратная реакция лактатдегидрогеназы
МДА – малоновый диальдегид
МСМ – молекулы средней массы
НС – нитрозативный стресс
ОАА – общая антиоксидантная активность
ОБ – ожоговая болезнь
ОС – окислительный стресс
ПОЛ – перекисное окисление липидов
СДГ – сукцинатдегидрогеназа
СК – синглетный кислород
СОД – супероксиддисмутаза
СРО – свободнорадикальное окисление
ТБК – тиобарбитуровая кислота
ТТ – термическая травма
ЭИ – эндогенная интоксикация
NO – монооксид азота
иNO – ингаляционный оксид азота