



ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА И ОКСИДА АЗОТА

А.К. Мартусевич^{1,3,4,*}, А.А. Мартусевич^{2,4}, А.В. Дерюгина², С.П. Перетягин⁴

¹ Университетская клиника ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России

603155, Российская Федерация, Нижний Новгород, Верхне-Волжская наб., д. 18/1

² ФГАУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»

603022, Российская Федерация, Нижний Новгород, просп. Гагарина, д. 23

³ ФГБОУ ВО «Кировский государственный медицинский университет» Минздрава России

610027, Российская Федерация, Киров, ул. Карла Маркса, д. 112

⁴ Ассоциация российских озонотерапевтов

603089, Российская Федерация, Нижний Новгород, ул. Бориса Панина, д. 9

Целью работы служило изучение электрофоретической подвижности эритроцитов при действии экзогенных активных форм кислорода и оксида азота на образцы крови и организм здоровых крыс. Первый этап эксперимента (*in vitro*) выполнен на образцах крови 15 здоровых доноров. Каждый образец был разделен на 5 равных порций по 5 мл, первая из которых являлась контрольной (в ней не проводили никаких манипуляций), остальные барботировали различными газовыми смесями (озоно-кислородной смесью с концентрацией озона 60 мг/л; синглетно-кислородной воздушной смеси; NO-содержащей газовой смесью с концентрацией оксида азота 20 и 100 ppm). Второй этап эксперимента (*in vivo*) выполнен на 40 половозрелых крысах-самцах популяции линий Wistar, разделенных на 7 групп. Первая группа животных (n=10) являлась контрольной. Животные второй группы (n=5) на протяжении 10 дней получали ежедневные ингаляции озоно-кислородной смеси. Крысам третьей и четвертой групп (n=5 в каждой) в течение 10 дней осуществляли ежедневные ингаляции синглетно-кислородной газовой смеси (50 и 100% мощности генератора), а пятой-седьмой групп (n=5 в каждой) — NO (концентрация соединения — 20, 50 и 100 ppm соответственно). На основании проведенных исследований обнаружен единый характер реагирования биосистем на непосредственное (при обработке крови) и опосредованное (в форме ингаляций) воздействие данных соединений в изучаемых условиях. Так, озоно-кислородная смесь и высокие концентрации оксида азота (100 ppm) обеспечивают снижение электрофоретической подвижности эритроцитов. Напротив, более низкие дозы NO (20 ppm) и синглетный кислород оказывают стабилизирующее влияние на состояние мембран красных клеток крови, повышая антиоксидантный потенциал биосреды. Подобный эффект указанных факторов способствует стимуляции электрокинетических свойств эритроцитов в эксперименте *in vivo* (при курсовых ингаляциях).

Ключевые слова: эритроциты, электрофоретическая подвижность, озон, синглетный кислород, оксид азота

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Мартусевич А.К., Мартусевич А.А., Дерюгина А.В., Перетягин С.П. Электрофоретическая оценка состояния мембран эритроцитов при действии активных форм кислорода и оксида азота. *Биомедицина*. 2019;15(1):102–112. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-15-1-102-112>

Поступила 19.11.2018

Принята после доработки 15.01.2019

Опубликована 10.03.2019

ELECTROPHORETIC STUDY OF ERYTHROCYTE MEMBRANES UNDER THE ACTION OF REACTIVE OXYGEN SPECIES AND NITRIC OXIDE

Andrey K. Martusevich^{1,3,4,*}, Anastasiia A. Martusevich^{2,4}, Anna V. Deriugina²,
Sergey P. Peretyagin⁴

¹ University Clinic of the Privolzhsky Research Medical University
603155, Russian Federation, Nizhny Novgorod, Verhne-Volzhskaya embankment, 18/1

² Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod
60360023, Russian Federation, Nizhny Novgorod, Gagarina avenue, 23

³ Kirov State Medical University
610027, Russian Federation, Kirov, Karla Marksa str., 112

⁴ Russian Association of Ozone Therapy
603089, Russian Federation, Nizhny Novgorod, Borisa Panina str., 9

This study was aimed at estimating the erythrocyte electrophoretic mobility by investigating the effect of exogenous reactive oxygen species and nitric oxide on the blood specimens and organism of healthy rats. In the first (*in vitro*) experimental stage, blood specimens taken from 15 healthy people were analyzed. Each specimen was divided into 5 portions (5 ml.). One portion was used as a control (without any manipulations), with the rest being treated with different gas mixtures, including an ozone-oxygen mixture with the ozone dose of 60 mg/l; singlet oxygen and an NO-containing gas mixture with 20 and 100 ppm of NO. The second (*in vivo*) experimental stage was performed on 40 male Wistar rats divided into 7 groups. The first group (n=10) was considered to be a control group. Animals in the second group (n=5) were given daily inhalations with the ozone-oxygen mixture. Rats in the third and fourth groups (n=5 in each) received inhalations with singlet oxygen (under the power of the generator of 50 and 100%, respectively). Animals in the fifth, sixth and eleventh groups (n=5 in each) were given daily inhalations with nitric oxide (under the NO concentration of 20, 50 and 100 ppm, respectively). Our study has demonstrated the biosystems under study to exhibit identical response patterns both to direct (blood treatment) and indirect (inhalations) action of the investigated substances. Thus, the ozone-oxygen mixture and high doses of nitric oxide (100 ppm) are shown to result in a decrease in the electrophoretic mobility of erythrocytes. Alternatively, both low NO doses (20 ppm) and singlet oxygen stabilize erythrocyte membranes by elevating the antioxidant potential of the biofluid. These effects contribute to the activation of erythrocyte electrokinetic properties *in vivo* experiments (after a course of inhalations).

Keywords: erythrocyte, electrophoretic motility, ozone, singlet oxygen, nitric oxide

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

For citation: Martusevich A.K., Martusevich A.A., Deriugina A.V., Peretyagin S.P. Electrophoretic Study of Erythrocyte Membranes under the Action of Reactive Oxygen Species and Nitric Oxide. *Biomedicine*. 2019;15(1):102–112. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-15-1-102-112>

Submitted 19.11.2018

Revised 15.01.2019

Published 10.03.2019

Введение

Биорадикалы, преимущественно представленные в живых системах активными формами кислорода (АФК) и оксидом азота [3, 8, 13], в настоящее время рассматриваются в качестве универсальных низкомолекулярных биорегуляторов, оказывающих влияние на широкий спектр физиологических и патологических процессов [4, 8, 24]. Их регуляторное значение прослеживается в отношении большинства метаболических путей, реализующихся на клеточно-тканевом уровне [1, 3, 8, 13, 15]. Учитывая нелинейность биологического ответа живых систем на действие экзогенных и эндогенных биорадикалов, доза последних может рассматриваться в качестве фактора, лимитирующего их эффект [10, 17, 23].

С другой стороны, исследования в области свободнорадикальной медицины преимущественно ориентированы на изучение особенностей модулирующего действия эндогенных биорадикалов на различные параметры биосистем [4, 8], тогда как характер влияния экзогенных соединений с радикальными свойствами до сих пор не раскрыт достаточно полноценно [12, 24]. В частности, на фоне наличия данных об особенностях протекания окислительных процессов в мембранах эритроцитов под влиянием АФК и монооксида азота не уточнен характер воздействия биорадикалов на электрокинетические свойства эритроцитов, зависящие от состояния мембран последних [17, 23]. Ранее публикациями нашего коллектива и работами др. авторов было показано, что электрофоретическая подвижность эритроцитов (ЭФПЭ), являющаяся их количественным критерием, может рассматриваться как неспецифический индикатор состояния эритрона и его реакции на изменения гомеостаза и внешние воздействия на организм [5, 20]. В то же время подобные сведения имеются лишь в отношении озона, причем они приводятся только в единичных источниках [17]. На основании этого **целью работы** служило

изучение электрофоретической подвижности эритроцитов при действии экзогенных активных форм кислорода и оксида азота на образцы крови и организм здоровых крыс.

Материалы и методы

Проведенное исследование имело двухэтапный дизайн, причем на первом этапе изучали непосредственное влияние активных форм кислорода и оксида азота на кровь, а на втором — характер опосредованного эффекта указанных факторов на организм животного при ингаляционном применении.

Первый этап эксперимента (*in vitro*) выполнен на образцах крови 15 здоровых доноров. Каждый образец был разделен на 5 равных порций по 5 мл, первая из которых являлась контрольной (в ней не проводили никаких манипуляций), остальные барботировали различными газовыми смесями (единые параметры обработки для всех воздействий: объем газовой смеси — 100 мл, продолжительность барботирования — 3 мин [13]). Вторую порцию крови обрабатывали озono-кислородной смесью (концентрация озона — 60 мг/л), третью — синглетно-кислородной воздушной смесью (примененная мощность генератора — 100%), а четвертую и пятую — NO-содержащей газовой смесью (концентрация оксида азота — 20 и 100 ppm соответственно). Барботаж производили путем медленного пропускания указанных газов через весь объем биологической жидкости, находящейся в стандартной стеклянной пробирке (выходное отверстие — выпускник газа — находилось на дне пробирки). Продолжительность экспозиции после обработки — 5 мин.

Второй этап эксперимента (*in vivo*) выполнен на 40 половозрелых крысах-самцах популяции линий Wistar, разделенных на 7 групп. Первая группа животных (n=10) являлась контрольной, с ними не проводили никаких манипуляций, кроме однократного получения крови. Животные второй группы

($n=5$) на протяжении 10 дней получали ежедневные ингаляции озono-кислородной смеси. Крысам третьей и четвертой групп ($n=5$ в каждой) в течение 10 дней осуществляли ежедневные ингаляции синглетно-кислородной газовой смеси (50 и 100% мощности генератора), а пятой–седьмой групп ($n=5$ в каждой) — оксида азота (концентрация соединения в газовом потоке — 20, 50 и 100 ppm для указанных групп соответственно). Продолжительность воздействия составляла 10 мин, скорость потока газовой смеси — 2 л/мин. Синтез NO-содержащей воздушной смеси осуществляли с помощью экспериментального генератора, разработанного в РФЯЦ-ВНИИЭФ (г. Саров, Россия) [7]. Воздушный поток, содержащий синглетный кислород, получали с применением аппарата Airnergy (Германия). Для проведения ингаляций крыс (по одной) помещали в эксикатор, через который осуществляли продувание газового потока.

По завершении полного курса воздействий у животных всех основных групп получали образцы крови. Из них выделяли эритроциты трехкратным отмыванием 0,85% р-ром хлористого натрия с последующим центрифугированием в течение 10 мин при 1500 об./мин. Измерение ЭФПЭ проводили методом микроэлектрофореза в собственной модификации [5, 9, 17]. Суспензию эритроцитов (0,1%) помещали в 10 mM трис-HCl буфер (pH 7,4) и фиксировали перемещение клеток при силе тока 8 мА. Величину ЭФПЭ определяли по формуле: $U = S/TH$, где S — расстояние, на которое перемещались клетки, T — время перемещения клеток на расстояние S , H — градиент потенциала.

Это исследование проводилось в соответствии с принципами Базельской декларации и рекомендациями локального этического комитета Университетской клиники ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России.

Полученные данные были обработаны статистически в программном пакете

Statistica 6.0. Нормальность распределения значений параметров оценивали с использованием критерия Шапиро — Уилка. С учетом характера распределения признака для оценки статистической значимости различий применяли H -критерий Краскела — Уоллеса.

Результаты исследования

В рамках первого этапа эксперимента, выполненного на образцах крови человека, установлено, что изучаемые экзогенные биорадикалы оказывают неодинаковое влияние на ЭФПЭ крови человека. Так, обе изучаемые АФК (озон и синглетный кислород) изменяют данный показатель, однако эти сдвиги разнонаправлены (рис. 1).

В частности, барботирование крови озono-кислородной смесью с концентрацией озона 500 мкг/л, что соответствует низким терапевтическим дозам [14], инициирует существенное снижение значения параметра (на 22%; $p < 0,05$ по сравнению с контрольным образцом), тогда как обработка биологической жидкости синглетно-кислородной газовой смесью вызывает умеренное повышение уровня ЭФПЭ (на 13% относительно контроля; $p < 0,05$). Это обусловлено тем обстоятельством, что даже небольшие количества озона, введенные в биосреду, обеспечивают стимуляцию процессов липопероксидации [12, 14], приводя к структурным перестройкам мембраны эритроцитов и, следовательно, изменению их электрокинетических характеристик.

Напротив, показанное нами ранее в экспериментах *in vitro* [13] и *in vivo* [10] антиоксидантное действие синглетного кислорода способствует стабилизации эритроцитарных мембран и повышению их устойчивости, что, в свою очередь, способствует увеличению подвижности клеток крови в электрическом поле.

Оценка влияния различных концентраций оксида азота на электрокинетические свойства эритроцитов позволила установить, что данное воздействие вызывает

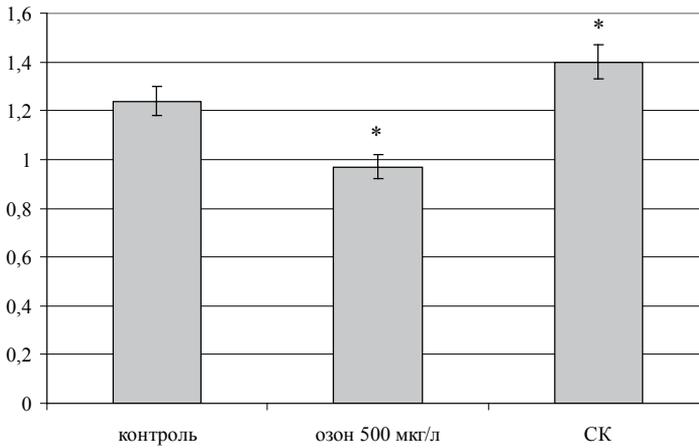


Рис. 1. Электрофоретическая подвижность эритроцитов ($\mu\text{м} \times \text{см} \times \text{B}^{-1} \times \text{с}^{-1}$) при действии активных форм кислорода (* — статистическая значимость различий по сравнению с контролем $p < 0,05$).

Fig. 1. Electrophoretic mobility of erythrocytes ($\mu\text{m} \times \text{cm} \times \text{B}^{-1} \times \text{s}^{-1}$) under the action of reactive oxygen species (* is the statistical significance of differences compared to the control $p < 0.05$).

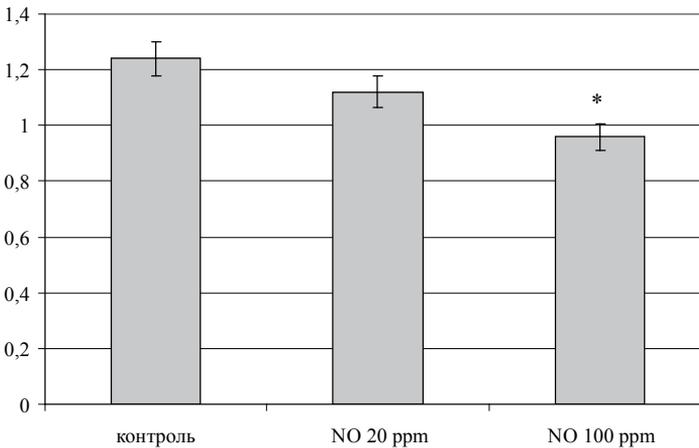


Рис. 2. Электрофоретическая подвижность эритроцитов ($\mu\text{м} \times \text{см} \times \text{B}^{-1} \times \text{с}^{-1}$) при действии оксида азота в различной концентрации (* — статистическая значимость различий по сравнению с контролем $p < 0,05$).

Fig. 2. Electrophoretic mobility of erythrocytes ($\mu\text{m} \times \text{cm} \times \text{B}^{-1} \times \text{s}^{-1}$) under the action of nitric oxide in various concentrations (* is the statistical significance of differences compared to the control $p < 0.05$).

дозозависимое снижение уровня ЭФПЭ (рис. 2). При этом, если при обработке крови относительно небольшим количеством NO (концентрация в газовой смеси — 20 ppm) эти сдвиги обнаруживаются лишь на уровне тенденции ($p < 0,1$ по сравнению с контрольным образцом), то при барботаже биологической жидкости более высокой концентрацией оксида азота (100 ppm) вы-

явлено снижение изучаемого параметра на 23% по отношению к контролю ($p < 0,05$). По нашему мнению, подобный характер ответа биосистемы на введение NO связан с тем, что небольшие количества последнего, утилизируясь в процессе реализации его биорегуляторной активности [2, 19, 24] и частично трансформируясь в депонирующие соединения (S-нитрозотиоды,

динитрозильные комплексы железа с высоко- и низкомолекулярными лигандами [21, 22, 24]), не включаются в свободнорадикальные процессы, протекающие в плазме и клетках крови.

С другой стороны, обработка биожидкости более высокой концентрацией NO обеспечивает условия для формирования его неутрализованного избытка, который способен трансформироваться в высокорепреактивные химические соединения, в частности пероксинитрит [23]. Обладая крайне высоким окислительным потенциалом, он может атаковать мембраны клеток крови, в том числе эритроцитов, потенцируя интенсивность свободнорадикальных процессов в них. Это, в свою очередь, приводит к изменению структуры эритроцитарных мембран и, как следствие, к сдвигам ЭФПЭ.

На втором этапе исследования изучали особенности модификации электрокинетических свойств мембран эритроцитов крыс при системном воздействии активных форм кислорода и оксида азота. Было установлено, что, как и в отношении непосредственной обработки крови источниками

радикалов, характер формируемых сдвигов ЭФПЭ определяется количеством и химическим составом воздействующих соединений. Так, при проведении ингаляций АФК выявлено, что озono-кислородная смесь и синглетный кислород разнонаправленно трансформируют изучаемый параметр (рис. 3). При этом проведение курса ингаляций озона способствует значительному снижению ЭФПЭ (на 30% относительно контрольной группы; $p < 0,01$), что согласуется с результатами эксперимента *in vitro*. Напротив, проведение ингаляций синглетного кислорода обеспечивает стимуляцию подвижности эритроцитов, причем использование полной мощности (100%) генератора данной активной формы кислорода приводило к достаточно существенному смещению уровня параметра (+13%; $p < 0,05$ по сравнению с интактными животными), тогда как при использовании 50% режима наблюдали сохранение физиологического уровня электрокинетической подвижности эритроцитов.

Также интересная динамика ответа была зафиксирована в отношении курсовых ингаляций различных концентраций

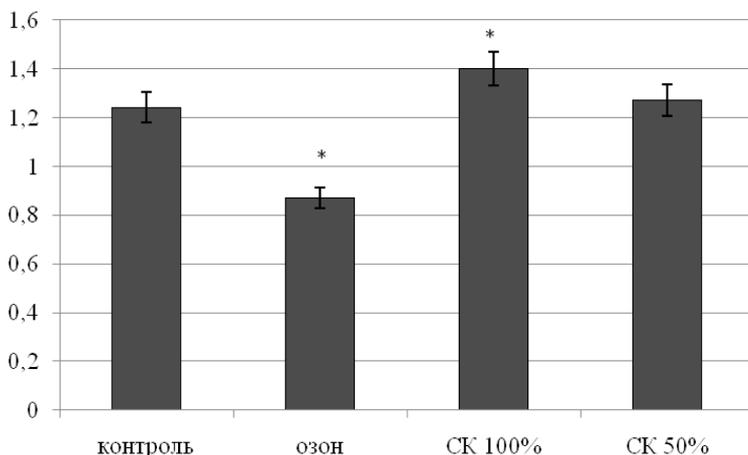


Рис. 3. Электрокинетические свойства эритроцитов крыс ($\mu\text{m} \times \text{cm} \times \text{B}^{-1} \times \text{s}^{-1}$) при проведении ингаляций активных форм кислорода (СК — ингаляции синглетно-кислородной смеси; «*» — статистическая значимость различий по сравнению с контролем $p < 0,05$).

Fig. 3. Electrokinetic properties of rat erythrocytes ($\mu\text{m} \times \text{cm} \times \text{B}^{-1} \times \text{s}^{-1}$) during a course of inhalations with reactive oxygen species (СК — singlet oxygen inhalations; * is the statistical significance of differences compared to the control $p < 0.05$).

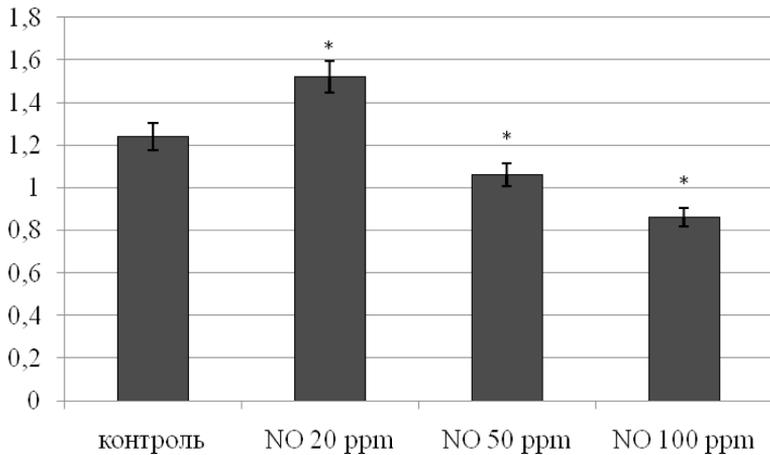


Рис. 4. Электрокинетические свойства эритроцитов крыс ($\mu\text{м} \times \text{см} \times \text{B}^{-1} \times \text{с}^{-1}$) при проведении ингаляций оксида азота (* — статистическая значимость различий по сравнению с контролем $p < 0,05$).

Fig. 4. Electrokinetic properties of rat erythrocytes ($\mu\text{m} \times \text{cm} \times \text{B}^{-1} \times \text{s}^{-1}$) during a course of inhalations with nitric oxide (* is the statistical significance of differences compared to the control $p < 0.05$).

NO (рис. 4). В частности, минимальная из примененных концентраций (20 ppm) обеспечивает нарастание значения показателя устойчивости мембран эритроцитов и их электрокинетической мобильности. В то же время применение газовой смеси с более высокими концентрациями (50 и 100 ppm) дозозависимо снижало ЭФПЭ (на 15 и 31% относительно интактных животных соответственно; $p < 0,05$ для обоих случаев). Это свидетельствует о двухфазности реакции мембран изучаемых клеток крови на курсовое ингаляционное применение данного оксида азота.

Обсуждение результатов

В настоящее время убедительно показана биорегуляторная роль малых молекул-радикалов [4, 8, 18], к числу которых относятся активные формы кислорода и монооксид азота [3, 6, 10, 15, 16]. С другой стороны, этот постулат касается преимущественно эндогенно генерируемых соединений [4, 15, 19], тогда как в отношении экзогенного их введения подобные сведения немногочисленны [1, 2, 21, 24]. В наших предшествующих работах было экспериментально показано, что эк-

зогенные источники кислород- и нитросодержащих радикалов способны изменять ряд метаболических параметров крови, включая индикаторы состояния окислительного и энергетического обмена, эритроцитарных ферментных систем детоксикации, как в условиях *in vitro* (на образцах крови) [5, 13], так и *in vivo* (у здоровых крыс популяции линий Wistar при ингаляционном и внутрибрюшинном введении) [11]. При этом продемонстрирован дифференцированный и дозозависимый характер ответа на воздействие данных физико-химических факторов. В частности, в этих исследованиях установлено модулирующее действие АФК и оксида азота на состояние мембран эритроцитов. Данный эффект был проиллюстрирован на примере динамики перекисной резистентности, характеризующей интенсивность процессов липопероксидации в эритроцитарных мембранах [11, 13].

Учитывая то обстоятельство, что ЭФПЭ в последние десятилетия рассматривается как интегральный параметр, позволяющий оценивать целостность и функциональные свойства мембран изучаемых клеток крови [10, 17, 23], представляло интерес уточнить

особенности сдвигов данного показателя в условиях влияния эндогенных источников радикалов и сопоставить его реализацию при непосредственной обработке крови и при системном применении фактора (в форме курса ингаляций).

Установлено, что среди изученных агентов наиболее неблагоприятным воздействием обладают ингаляции сухой озono-кислородной смеси и высокие концентрации оксида азота (100 ppm), которые существенно понижают электрокинетические свойства эритроцитов, что может быть обусловлено стимуляцией процессов липопероксидации в мембранах эритроцитов под влиянием данных источников радикалов. Напротив, синглетный кислород, для которого ранее нами показано выраженное антиоксидантное действие на биосистемы [10, 13, 22], способствует упрочнению липидного каркаса мембран, ингибируя процессы перекисного окисления липидов в последних. Аналогичный эффект прослеживается и в отношении низкой концентрации оксида азота (20 ppm), повышая мобильность рассматриваемых клеток крови в электрическом поле. Эти сдвиги ЭФПЭ, характерные для курсовых ингаляций синглетного кислорода и NO в концентрации 20 ppm, трактуются нами как благоприятные, проадаптивные. Приведенные результаты полностью подтверждают ранее продемонстрированное положительное действие указанных факторов на метаболические параметры крови, в частности, на состояние окислительного

и энергетического обмена, ферментных систем детоксикации и др. [10–13]. Это позволяет предположить, что одной из основных «точек приложения» экзогенных источников радикалов выступают свободнорадикальные процессы в мембранах эритроцитов, опосредующие биологические эффекты изучаемых соединений.

Заключение

На основании проведенных исследований обнаружен единый характер реагирования биосистем на непосредственное (при обработке крови) и опосредованное (в форме ингаляций) воздействие данных соединений в изучаемых условиях. Так, озono-кислородная смесь и высокие концентрации оксида азота (100 ppm) обеспечивают снижение электрофоретической подвижности эритроцитов. Напротив, более низкие дозы NO (20 ppm) и синглетный кислород оказывают стабилизирующее влияние на состояние мембран красных клеток крови, повышая антиоксидантный потенциал биосреды. Подобный эффект указанных факторов способствует стимуляции электрокинетических свойств эритроцитов в эксперименте *in vivo* (при курсовых ингаляциях). Таким образом показано, что экзогенные биорадикалы (активные формы кислорода и оксид азота) специфично и дозозависимо влияют на электрокинетические свойства эритроцитов в условиях *in vitro* и *in vivo*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ванин А.Ф., Чазов Е.И., Капелько В.И., Писаренко О.И., Шумаев К.Б., Максименко А.В., Руте Э.К., Тимошин А.А., Лакомкин В.Л., Цкитишвили О.В., Серебрякова Л.И., Мох В.П. Участие активных форм кислорода в модуляции гипотензивного эффекта динитрозильных комплексов железа // Кардиологический вестник. — 2007. — № 2. — С. 31–37.
2. Власова М.А., Смирин Б.В., Покидышев Д.А., Машина С.Ю., Ванин А.Ф., Малышев И.Ю., Манухина Е.Б. Механизм адаптации сосудистой системы к хроническому изменению уровня оксида азота в организме // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2006. — № 12. — С. 626–630.
3. Граник В.Г., Григорьев Н.Б. Оксид азота (NO). Новый путь к поиску лекарств. — М.: Вузовская книга, 2004.
4. Гусакова С.В., Ковалев И.В., Смаглий Л.В., Бирулина Ю.Г., Носарев А.В., Петрова И.В., Медведев М.А., Орлов С.Н., Реутов В.П. Газовая сигнализация

- в клетках млекопитающих // Успехи физиологических наук. — 2015. — Т. 46, № 4. — С. 53–73.
5. Дерюгина А.В., Ошевенский Л.В., Таламанова М.Н., Цветков А.И., Шабалин М.А., Глявин М.Ю., Крылов В.Н. Изменение электрокинетических и биохимических характеристик эритроцитов при действии электромагнитных волн терагерцового диапазона // Биофизика. — 2017. — Т. 62, № 6. — С. 1108–1113.
 6. Заворотная Р.М. Синглетный кислород при лечении ряда патологических процессов: физико-химические аспекты // Украинский ревматологический журнал. — 2002. — № 1. — С. 35–37.
 7. Карелин В.И., Буранов С.Н., Пименов О.А. и др. Плазмохимическая установка для NO-терапии // Медиаль. — 2013. — № 4. — С. 46.
 8. Костюк В.А., Потапович А.И. Биорадикалы и биоантиоксиданты. — Минск: БГУ, 2004.
 9. Крылов В.Н., Дерюгина А.В., Плескова С.Н. Электрофоретическая подвижность и морфометрия эритроцитов крыс при стрессовых воздействиях // Современные технологии в медицине. — 2010. — № 4. — С. 23–26.
 10. Мартусевич А.А., Перетягин С.П., Мартусевич А.К. Молекулярные и клеточные механизмы действия синглетного кислорода на биосистемы // Современные технологии в медицине. — 2012. — № 2. — С. 128–134.
 11. Мартусевич А.К., Соловьева А.Г., Ашихмин С.П., Перетягин С.П. Влияние ингаляций оксида азота на состояние окислительного и энергетического метаболизма крови крыс // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. — 2015. — Т. 101, № 2. — С. 180–188.
 12. 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.
 13. Мартусевич А.К., Соловьева А.Г., Перетягин С.П., Митрофанов В.Н. Оценка влияния некоторых физических факторов на энергетический метаболизм крови in vitro // Биомедицина. — 2013. — № 1. — С. 103–108.
 14. Перетягин С.П., Стручков А.А., Мартусевич А.К., Костина О.В., Лузан А.С. Применение озона как средства детоксикации в раннем периоде ожоговой болезни // Скорая медицинская помощь. — 2011. — Т. 12, № 3. — С. 39–43.
 15. Реутов В.П., Охотин В.Е., Шуклин А.В. Оксид азота (NO) и цикл NO в миокарде: молекулярные, биохимические и физиологические аспекты // Успехи физиологических наук. — 2007. — Т. 38, № 4. — С. 39–58.
 16. Самосюк И.З., Фисенко Л.И. (ред.) Синглетно-кислородная терапия. — Киев, 2007.
 17. Симулис И.С. Дерюгина А.В., Бояринов Г.А. и др. Изменение электрофоретической подвижности и формы эритроцитов при действии озона на эритроцитарную массу // Медиаль. — 2013. — № 4. — С. 20–21.
 18. Halliwell B., Gutteridge J.M.C. Free radicals in biology and medicine. — Oxford, UK: Oxford University Press, 1999.
 19. Ignarro L.J., Buga G.M., Wood K.S., Byrns R.E., Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1987. — Vol. 84. — P. 9265–9269.
 20. Nihei Y., Asai H., Ukai T., Marimoto H., Nakajima Y., Hanajiri T., Maekawa T. Detection of surface immunoreactions on individual cells by electrophoretic mobility measurement in a micro-channel // Sensors and actuators. — 2008. — Vol. 131. — P. 285–289.
 21. Shumayev K.B., Gubkin A.A., Serezhenkov V.A., et al. Interaction of reactive oxygen and nitrogen species with albumin- and hemoglobin bound dinitrosyl iron complexes // Nitric Oxide Biol. Chem. — 2008. — Vol. 18. — P. 37–46.
 22. Titov V.Yu., Ivanova A.V., Petrov V.A., Serezhenkov V.A., Mikoyan V.D., Vanin A.F., Osipov A.N. Can Summary Nitrite+Nitrate Content Serve as an Indicator of NO Synthesis Intensity in Body Tissues? // Bull. Exp. Biol. Med. — 2012. — Vol. 153, No. 6. — P. 840–843.
 23. van der Vliet A., Eiserich J.P., Halliwell B., Cross C.E. Formation of reactive nitrogen species during peroxidase-catalyzed oxidation of nitrite. A potential additional mechanism of nitric oxide-dependent toxicity // J. Biol. Chem. — 1997. — Vol. 272. — P. 7617–7625.
 24. Vanin A.F. Dinitrosyl-iron complexes with thiolate ligands: physico-chemistry, biochemistry and physiology // Nitric Oxide Biol. Chem. — 2009. — Vol. 21. — P. 136–149.
 25. Xie L., Sun D., Yao W., Wen Z. Microreological characteristics of reticulocyte in vivo // Science in China. — 2002. — Vol. 45, No. 1. — P. 50–55.

REFERENCES

1. Vanin A.F., Chazov E.I., Kapel'ko V.I., Pisarenko O.I., Shumayev K.B., Maksimenko A.V., Ruuge E.K., Timoshin A.A., Lakomkin V.L., Kkitishvili O.V., Serebryakova L.I., Moh V.P. Uchastie aktivnyh form kisloroda v modulyacii gipotenzivnogo ehffekta dinitrozil'nyh kompleksov zheleza [Role of reactive oxygen species in modulation of hypotensive effect of dinitrosyl iron complexes]. *Kardiologicheskij vestnik [Cardiol. Gerald]*. 2007. No. 2. Pp. 31–37. (In Russian).
2. Vlasova M.A., Smirin B.V., Pokidyshev D.A., Mashina S.Yu., Vanin A.F., Malyshev I.Yu., Manuhina E.B. Mekhanizm adaptacii sosudistoj sistemy k

- hronicheskomu izmeneniyu urovnya oksida azota v organizme [Mechanism of adaptation of cardiovascular system to chronic shift of nitric oxide level in organism]. *Byulleten' ehksperimental'noj biologii i mediciny* [Bull. Exp. Biol. and Med.]. 2006. V. 12. Pp. 626–630. (In Russian).
- Granik V.G., Grigor'ev N.B. Oksid azota (NO). Novyj put' k poisku lekarstv [Nitric oxide (NO). New way to drug discovery]. Moscow: Vuzovskaya kniga, 2004. (In Russian).
 - Gusakova S.V., Kovalev I.V., Smaglij L.V., Birulina Yu.G., Nosarev A.V., Petrova I.V., Medvedev M.A., Orlov S.N., Reutov V.P. Gazovaya signalizaciya v kletkah mlekopitayushchih [Gas signaling in mammalian cells]. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk* [Advances in physiological sciences]. 2015. V. 46, No. 4. Pp. 53–73. (In Russian).
 - Deryugina A.V., Oshevskij L.V., Talamanova M.N., Cvetkov A.I., Shabalin M.A., Glyavin M.Yu., Krylov V.N. Izmenenie ehlektrokineticheskikh i biohimicheskikh harakteristik ehritroцитов pri dejstvii ehlektromagnitnyh voln teragercovogo diapazona [Changes of electrokinetic and biochemical characteristics of erythrocytes under action of electromagnetic waves of terahertz mode]. *Biophysics*. 2017. V. 62, No. 6. Pp. 1108–1113. (In Russian).
 - Zavorotnaya R.M. Singletnyj kislorod pri lechenii ryada patologicheskikh processov: fiziko-himicheskie aspekty [Singlet oxygen in treatment of some pathological processes: physical and chemical aspects]. *Ukrainskiy revmatologicheskij zhurnal* [Ukrainian Rheumatology J.]. 2002. No. 1. Pp. 35–37. (In Russian).
 - Karelin V.I., Buranov S.N., Pimenov O.A., et al. Plazmo-himicheskaya ustanovka dlya NO-terapii [Plasma chemical device for NO-therapy]. *Medial*. 2013. No. 4. P. 46. (In Russian).
 - Kostyuk V.A., Potapovich A.I. Bioradikaly i bioantioxidanty [Bioadicals and antioxidants]. Minsk: BGU, 2004. (In Russian).
 - Krylov V.N., Deryugina A.V., Pleskova S.N. Ehlektroforeticheskaya podvizhnost i morfometriya ehritroцитов krys pri stressovyh vozdeystviyah [Electrophoretic motility and morphometry of rats erythrocytes under stress conditions]. *Sovremennye tekhnologii v medicine* [Modern technology in medicine]. 2010. No. 4. Pp. 23–26. (In Russian).
 - Martusevich A.A., Peretyagin S.P., Martusevich A.K. Molekulyarnye i kletochnye mekhanizmy dejstviya singletnogo kisloroda na biosistemy [Molecular and cellular mechanism of the action of singlet oxygen on biological systems]. *Sovremennye tekhnologii v medicine* [Modern technology in medicine]. 2012. No. 2. Pp. 128–134. (In Russian).
 - Martusevich A.K., Solov'eva A.G., Ashikhmin S.P., Peretyagin S.P. Vliyanie ingyaliacij oksida azota na sostoyanie okislitel'nogo i ehnergeticheskogo metabolizma krovi krys [The influence of nitric oxide inhalations on the state of oxidative and energy metabolism in rats blood]. *Ros. fiziol. zhurn. im. I.M. Sechenova* [Russ. J. of Physiol. Russian named after I.M. Sechenov]. 2015. V. 101, No. 2. Pp. 180–188. (In Russian).
 - Martusevich A.K., Solov'eva A.G., Peretyagin S.P. Vliyanie svobodnogo i deponirovannogo oksida azota na ehnergeticheskij metabolizm krovi [The influence of bound nitric oxide on blood energy metabolism. *Sovremennye tekhnologii v medicine* [Modern technology in medicine]. 2013. V. 5. No. 4. Pp. 33–38. (In Russian).
 - Martusevich A.K., Solov'eva A.G., Peretyagin S.P., Mitrofanov V.N. Ocenka vliyaniya nekotorykh fizicheskikh faktorov na ehnergeticheskij metabolizm krovi in vitro [Estimation of the influence of some physical factors on blood energy metabolism in vitro]. *Bio-medicine*. 2013. No. 1. Pp. 103–108. (In Russian).
 - Peretyagin S.P., Struchkov A.A., Martusevich A.K., Kostina O.V., Luzan A.S. Primenenie ozona kak sredstva detoksikacii v rannem periode ozhogovoj bolezni [Use of the ozone as a detoxication remedy in early period of burn disease]. *Skoraya meditsinskaya pomoshch* [Emergency]. 2011. V. 12, No. 3. Pp. 39–43. (In Russian).
 - Reutov V.P., Ohotin V.E., Shuklin A.V. Oksid azota NO i cikl NO v miokarde: molekulyarnye, biohimicheskie i fiziologicheskie aspekty [Nitric oxide (NO) and NO cycle in the myocardium: molecular, biochemical and physiological aspects]. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk* [Advances in physiological sciences]. 2007. V. 38, No. 4. Pp. 39–58. (In Russian).
 - Samosyuk I.Z., Fisenko L.I. (edited). Singletno-kislorodnaya terapiya [Singlet-oxygen therapy]. Kiev, 2007. (In Russian).
 - Simutis I.S., Deriugina A.V., Boyarinov G.A., et al. Izmenenie ehlektroforeticheskoy podvizhnosti i formy ehritroцитов pri dejstvii ozona na ehritroцитarnuyu massu [Changes of electrophoretic motility and share of erythrocytes under ozone action on erythrocyte mass]. *Medial*. 2013. No. 4. Pp. 20–21. (In Russian).
 - Halliwell B., Gutteridge J.M.C. Free radicals in biology and medicine. Oxford, UK: Oxford University Press, 1999.
 - Ignarro L.J., Buga G.M., Wood K.S., Byrns R.E., Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1987. V. 84. Pp. 9265–9269.
 - Nihei Y., Asai H., Ukai T., Marimoto H., Nakajima Y., Hanajiri T., Maekawa T. Detection of surface immunoreactions on individual cells by electrophoretic mobility measurement in a micro-channel. *Sensors and actuators*. 2008. V. 131. Pp. 285–289.
 - Shumakov K.B., Gubkin A.A., Serezhnikov V.A., et al. Interaction of reactive oxygen and nitrogen species with albumin- and hemoglobin bound dinitrosyl iron complexes. *Nitric Oxide Biol. Chem.* 2008. V. 18. Pp. 37–46.

22. Titov V.Yu., Ivanova A.V., Petrov V.A., Serezhnikov V.A., Mikoyan V.D., Vanin A.F., Osipov A.N. Can Summary Nitrite+Nitrate Content Serve as an Indicator of NO Synthesis Intensity in Body Tissues? Bull. Exp. Biol. Med. 2012. V. 153. No. 6. Pp. 840–843.
23. van der Vliet A., Eiserich J.P., Halliwell B., Cross C.E. Formation of reactive nitrogen species during peroxidase-catalyzed oxidation of nitrite. A potential additional mechanism of nitric oxide-dependent toxicity. J. Biol. Chem. 1997. V. 272. Pp. 7617–7625.
24. Vanin A.F. Dinitrosyl-iron complexes with thiolate ligands: physico-chemistry, biochemistry and physiology. Nitric Oxide Biol. Chem. 2009. V. 21. Pp. 136–149.
25. Xie L., Sun D., Yao W., Wen Z. Micro rheological characteristics of reticulocyte in vivo. Science in China. 2002. V. 45. No. 1. Pp. 50–55.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Мартусевич Андрей Кимович*, д.б.н., Университетская клиника ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России; зав. лаб. биокристалломики и свободнорадикальной медицины, ФГБОУ ВО «Кировский государственный медицинский университет» Минздрава России; ученый секретарь, Ассоциация российских озонотерапевтов; e-mail: cryst-mart@yandex.ru

Andrey K. Martusevich*, Dr. Sci. (Biology), University Clinic of the Privolzhsky Research Medical University; Head of Laboratory of Biocrystallography and Free Radical Medicine, Kirov State Medical University; Scientific Secretary, Russian Association of Ozone Therapy; e-mail: cryst-mart@yandex.ru

Мартусевич Анастасия Анатольевна, Институт биологии и биомедицины ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»; Ассоциация российских озонотерапевтов

Anastasiia A. Martusevich, Institute of Biology and Biomedicine of the Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod; Russian Association of Ozone Therapy

Дерюгина Анна Вячеславовна, д.б.н., доц., Институт биологии и биомедицины ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»

Anna V. Deriugina, Dr. Sci. (Biology), Associate Professor, Institute of Biology and Biomedicine of the Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod

Перетягин Сергей Петрович, д.м.н., проф., Ассоциация российских озонотерапевтов

Sergey P. Peretyagin, Dr. Sci. (Med.), Professor, Russian Association of Ozone Therapy

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author