

11. Blango M. G., Mulvey M. A. Persistence of uropathogenic *Escherichia coli* in the face of multiple antibiotics.//*Antimicrob. Agents Chemother.* – 2010. – Volume 54 (5).
12. Darouiche R. O. Device-associated infections: a macroproblem that starts with microadherence.//*Clin. Infect. Dis.* – 2001. – Volume 33 (9).
13. Manos J. Transcriptome analyses and biofilm-forming characteristics of a clonal *Pseudomonas aeruginosa* from the cystic fibrosis lung.//*J. of Med. Microb.* – 2008. – Volume 57.
14. Moons P. Bacterial interactions in biofilms.//*Crit. Rev. Microbiol.* – 2009. – Volume 35 (3).
15. Qiu D., Eisinger V. M., Head N. E., Pier G. B., Yu H. D. ClpXP proteases positively regulate alginate over-expression and mucoid conversion in *Pseudomonas aeruginosa*.//*Microbiology.* – 2008. – Volume 154.
16. Pace J. L., Rupp M. E., Finch R. G. *Biofilms, Infection, and Antimicrobial Therapy.* – Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2006.
17. Moons P., Michiels C. W., Aertsen A. Bacterial interactions in biofilms.//*Crit. Rev. Microbiol.* – 2009. – Volume 35 (3).
18. Hassett D. J., Sutton M. D., Schurr M. J., Herr A. B., Caldwell C. C., Matu J. O. *Pseudomonas aeruginosa* hypoxic or anaerobic biofilm infections within cystic fibrosis airways.//*Trends. Microbiol.* – 2009. – Volume 17 (3).
19. Christensen G. D., Simpson W. A., Younger J. J., Baddour L. M., Barrett F. F., Melton D. M., Beachey E. H. Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices.//*J Clin Microbiol.* – 1985. – Volume 22 (6).
20. Glantz S. *Primer of biostatistics.* – McGraw-Hill Publishing Co., 5th edition, – 2002.

*Kytikova Oxana Yr'evna, PhD,
Vladivostok Branch of FGBNU
"Far Eastern Scientific Center of Physiology
and Pathology of Respiration",
Research Institute of Medical Climatology
and Rehabilitation Treatment, Vladivostok
E-mail: kytikova@yandex.ru*

*Gvozdenko Tatyana Aleksandrovna, MD,
Research Institute of Medical Climatology
and Rehabilitation Treatment, Vladivostok
E-mail: vfdnz@mail.ru*

*Vitkina Tatyana Isaakovna, MD,
Research Institute of Medical Climatology
and Rehabilitation Treatment, Vladivostok
E-mail: vfdnz@mail.ru*

DNA damage induced by a ozone in peripheral blood lymphocytes of elderly patients with chronic obstructive pulmonary disease

Abstract: We have assessed DNA damage by using various therapeutic concentrations of ozone in the peripheral blood lymphocytes of elderly patients with chronic obstructive pulmonary disease (in vitro). The results of this work demonstrate that ozone induces DNA damage. It was also noticed, that there is a clear dose-dependent increase in DNA damage.

Keywords: DNA damage, ozone, chronic obstructive pulmonary disease, elderly patients.

Кытикова Оксана Юрьевна,
Владивостокский филиал ФГБНУ
«Дальневосточный научный центр
физиологии и патологии дыхания»,
Научно-исследовательский институт
медицинской климатологии и восстановительного
лечения, Владивосток,
кандидат медицинских наук,
E-mail: kytikova@yandex.ru

Гвозденко Татьяна Александровна,
доктор медицинских наук,
Научно-исследовательский институт медицинской
климатологии и восстановительного лечения
E-mail: vfdnz@mail.ru

Виткина Татьяна Исааковна,
доктор биологических наук,
Научно-исследовательский институт медицинской
климатологии и восстановительного лечения
E-mail: vfdnz@mail.ru

Медицинский озон как индуктор повреждений ДНК в лимфоцитах периферической крови пожилых больных хронической обструктивной болезнью легких

Аннотация: Изучалась степень повреждения ДНК в лимфоцитах периферической крови пожилых больных хронической обструктивной болезнью легких при использовании различных концентраций медицинского озона (*in vitro*). В результате проведенных исследований установлено, что применение озона индуцирует повреждение ДНК. Так же отмечено, что степень выраженности повреждения ДНК прямо зависит от применяемой концентрации медицинского озона.

Ключевые слова: повреждения ДНК, озон, хроническая обструктивная болезнь легких, пожилые пациенты.

Введение

В условиях прогрессирующего старения населения особенно остро стоит проблема повышения качества дополнительных лет жизни посредством разработки методов восстановительного лечения и профилактики наиболее распространенной патологии пожилого возраста с преимущественным использованием физиотерапевтических методов [1, 4–5]. Подобный подход позволит существенно снизить затраты государства на терапию заболеваний лиц пожилого возраста, в частности хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) [2, 480].

Изменения к требованию здоровья при увеличении доли пожилых в структуре популяции

ставят во главу угла вопросы регуляции окислительно-восстановительных процессов — основы жизнедеятельности организма. Все типы реагирования с участием редокс-окислительных систем направлены на предотвращение развития критических стресс-патологических состояний и последующего повреждения геномного аппарата клетки. Терапевтическое действие медицинского озона основано на его способности к модуляции окислительно-восстановительного потенциала клетки за счет стимуляции эндогенной защиты организма [3, 3]. Крайне важным условием при назначении озонотерапии является соответствие дозы медицинского озона адаптационным резервам антиоксидантных систем стареющего организма,

так как в случае развития стохастических неконтролируемых реакций перекисного окисления повреждаются биологические молекулы, в частности ДНК клетки [4, 22]. Повреждения ДНК опосредуют развитие процессов мутагенеза, канцерогенеза, старения и развития возрастассоциированных заболеваний [5, 531]. Уровень 8-гидрокси дезоксигуанозина (8-OHdG) считают интегральным маркером окислительного повреждения ДНК, так его увеличение в крови и моче за счет его эндогенного поступления предотвращается за счет гидролиза в желудочно-кишечном тракте [6, 71]. В этой связи, изучение уровня 8-OHdG, образующегося в ДНК при действии синглетного кислорода и гидроксильных радикалов, необходимо не только для всестороннего изучения процессов старения и развития возрастассоциированных заболеваний, но и оценки безопасности применения биоокислительных методов лечения.

Беспрецедентно широкий спектр методик и методов, лечебных феноменов практического применения озонотерапии позволяет обеспечить полноценный лечебный, превентивный и реабилитационный процесс для каждого больного, что особенно важно в гериатрии в связи с наличием полиморбидности, полипрагмазии и сниженной комплаентности пожилых пациентов [7, 196–197]. Необходимы дальнейшие, глубокие и всесторонние исследования влияния безопасности различных концентраций медицинского озона на клетки крови *in vitro* пожилых больных. Однако, вопросы возможного повреждения ДНК клеток крови при действии озон-кислородной газовой смеси изучались в ограниченном количестве научно-исследовательских работ зарубежных ученых и проводились без учета онтогенетических особенностей организма [8, 19].

Материалы и методы

На образцах крови 20 пожилых больных ХОБЛ стабильного течения проведены исследования безопасности различных концентраций медицинского озона (*in vitro*). Средний возраст больных составил $66,70 \pm 1,30$ лет. Из числа здоровых лиц выделена группа контроля старшего возраста ($n = 15$; средний возраст — $64,92 \pm 1,73$ лет).

К образцам крови больных добавлялся озонированный физиологический раствор (ОФР). В

зависимости от насыщающей физиологический раствор концентрации озона, в группе больных были выделены три подгруппы: I (низкая концентрация — 600 мкг/л); II (средняя — 2000 мкг/л); III (высокая — 3000 мкг/л). Во всех подгруппах исходно и через 60 минут после добавления ОФР определяли уровень МДА, показатель АОА и рассчитывали коэффициент перекисидации МДА/АОА; оценивали уровень 8-OHdG. Для получения ОФР использовали медицинские генераторы озона: «Квазар» (сертификат соответствия № РОСС RU. ME34. B01135); УОТА-60-01, АОТ-Н-01-Арз-01/1, «Медозон», г. Москва, Россия.

Уровень малонового диальдегида оценивали с помощью метода NWLSS™ NWK-MDA01 (Northwest Life Science Specialties, LLC, USA). Общий антиоксидантный статус (TAS) определяли с помощью набора реактивов для колориметрического количественного определения (RANDOX, Великобритания). Коэффициент перекисидации (МДА/АОА) определяли расчетным методом, как соотношение уровня МДА к показателю АОА. Оценку содержания Human 8-Hydroxy-desoxyguanosine (8-OHdG) в ДНК клеток крови проводили с использованием набора «ELISA Kit» (Cusabio, PRC).

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием прикладной программы «Statistica 6.1». Достоверность оценивалась с помощью критерия Стьюдента. Для обработки полученной информации использовались стандартные статистические процедуры: расчет средней — M , стандартной ошибки средней — m , медианы — Me , среднее квадратичного отклонения — s , коэффициента вариации — C .

Результаты исследований и их обсуждение

В наших исследованиях установлено, что исходный коэффициент перекисидации МДА/АОА в группе больных ХОБЛ на $46,63\%$ ($p < 0,01$) превышал контрольные значения (табл. 1).

Добавление ОФР к пробам крови больных сопровождалось снижением коэффициента МДА/АОА относительно исходного уровня в I подгруппе (применение низкой концентрации медицинского озона) на $26,50\%$ ($p < 0,05$) до контрольных значений. Во II подгруппе (применение

средней концентрации медицинского озона) установлено повышение МДА/АОА относительно исходного уровня на 10,95 % ($p < 0,05$) и контрольного уровня на 62,69 % ($p < 0,001$). В III подгруппе (применение высокой концентрации), несмотря на снижение коэффициента МДА/АОА относительно исходных значений на 20,14 % ($p < 0,05$), он оставался статистически значимо выше контроля на 17,09 % ($p < 0,05$).

Показатель 8-ОНдГ исходно превышал контрольный уровень на 82,44 % ($p < 0,001$) (табл. 1).

Таблица 1. – Динамика коэффициента пероксидации МДА/АОА и уровня 8-ОНдГ у больных ХОБЛ старшего возраста при различных режимах дозирования медицинского озона (*in vitro*)

показатель	контроль (n=15)	фон (n=20)	режим дозирования ОКС		
			I	II	III
МДА/АОА, у. е.	1,93 ± 0,18	2,83 ± 0,28 ••	2,08 ± 0,13 *	3,14 ± 0,23 ••• * ###	2,26 ± 0,24 • *
8-ОНдГ, нг/мл	9,00 ± 0,36	16,42 ± 0,94 •••	27,58 ± 1,04 ••• ***	36,74 ± 1,52 ••• *** ##	38,95 ± 1,49 •••• *** ##

Примечание: режим дозирования ОКС: I — низкая; II — средняя; III — высокая концентрация озона; • – $p < 0,05$; •• – $p < 0,01$; ••• – $p < 0,001$ — статистическая значимость показателей при сравнении с контролем; * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ — статистическая значимость показателей при сравнении с фоном; # – $p < 0,05$; ## – $p < 0,01$; ### – $p < 0,001$ — статистическая значимость показателей при сравнении II, III подгрупп с I подгруппой; n — количество проведенных исследований.

Таким образом, установлено, что первичная реакция системы липопероксидации и обусловленное развитием оксидативного стресса окислительное повреждение ДНК зависят от применяемой концентрации медицинского озона. Применение низкой и высокой концентрации медицинского озона сопровождалось уменьшением степени выраженности исходного дисбаланса в системе липопероксидации, оцениваемого по коэффициенту пероксидации МДА/АОА. Применение средней концентрации медицинского озона сопровождалось ростом коэффициента МДА/АОА. Степень повышения показателя 8-ОНдГ прямо зависела от применяемой концентрации медицинского озона. По результатам экспериментальных исследований (*in vitro*) можно заключить, что применение низкой концентрации озона нивелировало дисбаланс в системе пероксидации и сопровождалось минимальным ростом уровня 8-ОНдГ относительно

После добавления ОФР к пробам крови уровень окислительного маркера ДНК стал превышать исходные (на 67,96 %; 123,75 % и 137,21 % соответственно I, II, III подгруппам, $p < 0,001$) и контрольные значения (на 206,44 %; 308,22 %; 332,77 %, $p < 0,001$ соответственно I, II, III подгруппам). Степень повышения показателя 8-ОНдГ прямо зависела от применяемой концентрации медицинского озона, что подтверждалось статистически значимыми различиями маркера между II, III подгруппами с I подгруппой ($p < 0,01$).

контрольных и фоновых значений, в сравнении с применением средней и высокой концентраций. Мягкая, стрессиндуцированная стимуляция защитных механизмов клетки, опосредованная применением низких доз озонотерапии, более предпочтительна у лиц старшего возраста из всех трех режимов дозирования, включенных в исследование.

Как инновационная технология биорегулирующей редокс-окислительной терапии, озонотерапия позволяет сохранить основной физиологический иммунный смысл жизни — здоровье, адаптивное старение и долголетие. Привлекающая внимание научного мира проблема рациональной, точно дозируемой озонотерапии особенно остро стоит в настоящее время, в условиях характера современной патологии и прогрессирующего демографического постарения. Необходимы всесторонние изучения безопасности применения озонотерапии в клинической практике пожилых.

Список литературы:

1. Абрамович С.Г. Основы физиотерапии в гериатрии. – Иркутск, 2008.
2. Albertson T. The Pharmacological Approach to the Elderly COPD Patient. – Drugs Aging, 2013.

3. Bocci V., Zanardi I., Travagli V. Oxygen/ozone as a medical gas mixture. A critical evaluation of the various methods clarifies positive and negative aspects.//Medical Gas Research. – 2011.
4. Diaz-Llera S. Is Therapeutic Ozone Genotoxic?//Revista Española de Ozonoterapia. – 2011.
5. Lagouge M., Larsson N. G. The role of mitochondrial DNA mutations and free radicals in disease and ageing.//J. Intern. Med. – 2013.
6. Зайцева Н. В., Землянова М. А., Алексеев В. Б., Щербина С. Г. Цитогенетические маркеры и гигиенические критерии оценки хромосомных нарушений у населения и работников в условиях воздействия химических факторов с мутагенной активностью (на примере металлов, ароматических углеводородов, формальдегида). – Пермь, 2013.
7. Иванов Е. М., Кыткова О. Ю., Новгородцев А. Д. Озонотерапия в гериатрии. – Владивосток: Изд-во ДВГУ, 2006.
8. Foksinski M., Bialkowski K., Skiba M. et al. Evaluation of 8-oxodeoxyguanosine, typical oxidative DNA damage, in lymphocytes of ozone-treated arteriosclerotic patients.//Mutat Res. – 1999.

Sadriddinov Asomiddin Fayazovich,
Tashkent Pediatric Medical Institute,
Docent, department of histology
Isayeva Nilufar Zibudullaevna,
Assistant Department of Human Anatomy
Sheraliev Kambarali Saydalievich,
Assistant Department of Human Anatomy
Muratov Oblokul Ummatovich,
Assistent department of histology
Shertaev Bahodir Muhamedjanovich,
Docent, department of biology
Teshaboeva Maftuna Khurramovna,
Student
E-mail: asom_sad_23@mail.ru

Morphological aspects of natural death for hepatic cells

Abstract: The dynamics of natural death of pubertal rabbits' hepatic cells are described. It is determined that apoptosis begins with clarification and little blocks in nucleus, vesiculation, peaknosis, distruction, decomposition, and, at last elimination of decomposed paticiples in lumen of vessels.

Keywords: liver, hepatocytes, apoptosis.

Садриддинов Асомиддин Фаязович,
Ташкентский Педиатрический медицинский институт,
доцент кафедры гистологии
Исаева Нилуфар Зибудуллаевна,
ассистент кафедры анатомии человека
Шералиев Камбарали Сайдалиевич,
ассистент кафедры анатомии человека
Муротов Облокул Умматович,
ассистент кафедры гистологии