

<https://doi.org/10.25207/1608-6228-2024-31-5-73-87>



УДК: 612.014.464:616-089.444:616.5

Влияние КВЧ-озонотерапии на состояние окислительного метаболизма крови крыс с ишемизированным кожным лоскутом: доклиническое экспериментальное рандомизированное исследование

А.К. Мартусевич^{1,2}✉, И.Е. Сазонова¹, А.Г. Соловьева³, Н.Ю. Орлинская¹, В.В. Кононец⁴, Л.Р. Диленян¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, пл. Минина, д. 10/1, г. Нижний Новгород, 603000, Россия

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Нижегородский государственный агротехнологический университет», пр. Гагарина, д. 97, г. Нижний Новгород, 603117, Россия

³ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», пр. Гагарина, д. 23, г. Нижний Новгород, 603022, Россия

⁴ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Нижегородский государственный технический университет им. Р.Е. Алексеева», ул. Минина, д. 24, г. Нижний Новгород, 603155, Россия

АННОТАЦИЯ

Введение. Проблема сохранения и восстановления микроциркуляции кожи в оперированном лоскуте и ускорения реабилитации после пересадки кожного лоскута с целью ликвидации последствий ожогов и травм является актуальной. Наряду с использованием разных сроков и способов пластики прекрасную эффективность демонстрируют физиотерапевтические методики, среди которых особое место занимает электромагнитное излучение низкой интенсивности миллиметрового диапазона волн. Особенную актуальность приобретает активно изучаемое в последние годы применение электромагнитного излучения низкой интенсивности в разных диапазонах частот для улучшения микроциркуляции у пациентов с хирургической коррекцией последствий ожогов. Однако данное направление требует дальнейшего подтверждения. **Цель исследования** — изучение влияния различных вариантов экспериментального электромагнитного излучения крайне высокой частоты в сочетании с озонотерапией на состояние окислительного метаболизма крови крыс на модели ишемизированного кожного лоскута. **Методы.** Доклиническое экспериментальное рандомизированное исследование проведено на 100 половозрелых крысах-самцах линии Wistar массой от 200 до 250 г. В ходе исследования были сформированы пять равных по численности групп животных: группа 1 — интактная (без каких-либо манипуляций), группы 2, 3, 4 и 5 — с оперативным вмешательством (моделирование ишемизированного кожного лоскута). Животные группы 2 (контрольная) не получали каких-либо лечебных процедур. Крысам 3-й и 5-й опытных групп в течение 7 дней проводили курсовое 10-минутное воздействие электромагнитного излучения с дозой 0,06 мДж. Животные 3-й группы получали облучение электромагнитным излучением крайне высокой частоты с диапазоном частот 53–78 ГГц, 4-й опытной группы — инъекции озонарированного физиологического раствора (насыщающая концентрация озона в озоно-кислородной смеси — 3000 мкг/л) ежедневно в течение 7 дней в объеме 1 мл внутрибрюшинно. Крысам 5-й группы производили комбинированное воздействие: ежедневную обработку источником электромагнитного излучения крайне высокой частоты и внутрибрюшинную озонотерапию (режимы применения воздействий были аналогичны использованным в 3-й и 4-й опытных группах соответственно). Для исследования баланса про- и антиоксидантных систем в плазме и эритроцитах изучали интенсивность перекисного окисления липидов, перекисную резистентность в эритроцитах, общую активность антиоксидантных систем, определяли уровень содержания малонового дигидегида, в эритроцитах оценивали активность супероксиддисмутазы и каталазы. Расчеты полученных данных проводились при использовании программных комплексов MS Office 2013 (Microsoft Corporation, США), «Statistica», v. 10 (StatSoft, США). **Результаты.** В ходе проведенных исследований установлено наличие антиоксидантного эффекта электромагнитного излучения крайне высокой частоты, причем выраженность этих свойств усиливалась в комбинации с озонотерапией. Также выявлено ингибирование свободнорадикального окисления под влиянием электромагнитного излучения крайне высокой частоты и озонотерапии. **Заключение.** Таким образом, положительное действие изучаемых лечебных факторов проявляется на системном уровне, о чем свидетельствует оптимизация биохимических параметров и индикаторов окислительного метаболизма плазмы крови животных. Установлено, что электромагнитное излучение крайне высоких частот в режиме шума оказывает регуляторное влияние на состояние про- и антиоксидантных систем организма на модели пересаженного кожного лоскута, обеспечивая снижение выраженности окислительного стресса и повышение антиоксидантных резервов крови. Данный эффект усиливается при дополнительном применении озонотерапии.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: КВЧ, озонотерапия, кровь, свободнорадикальное окисление, антиоксиданты, ишемия, кожный лоскут

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Мартусевич А.К., Сазонова И.Е., Соловьева А.Г., Орлинская Н.Ю., Кононец В.В., Диленян Л.Р. Влияние КВЧ-озонотерапии на состояние окислительного метаболизма крови крыс с ишемизированным кожным лоскутом: доклиническое экспериментальное рандомизированное исследование. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2024;31(5):73–87. <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2024-31-5-73-87>

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ: авторы заявляют об отсутствии спонсорской поддержки при проведении исследования.

© Мартусевич А.К., Сазонова И.Е., Соловьева А.Г., Орлинская Н.Ю., Кононец В.В., Диленян Л.Р., 2024

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ: один из авторов — доцент, доктор медицинских наук А.А. Мартусевич является членом редакционного совета журнала «Кубанский медицинский вестник». Авторам неизвестно о каком-либо другом потенциальном конфликте интересов, связанном с этой рукописью.

ДЕКЛАРАЦИЯ О НАЛИЧИИ ДАННЫХ: данные, подтверждающие выводы этого исследования, можно получить у корреспондирующего автора по обоснованному запросу. Данные и статистические методы, представленные в статье, прошли статистическое рецензирование редактором журнала — сертифицированным специалистом по биостатистике.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ: проведение экспериментального исследования одобрено локальным этическим комитетом федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (пл. Минина, д. 10/1, г. Нижний Новгород, 603000, Россия) протокол № 2 от 17.02.2017. Условия содержания животных и работы с ними соответствовали принципам Хельсинской декларации о гуманном отношении к животным, директиве Европейского парламента и Совета Европейского союза 2010/63/EC от 22 сентября 2010 г. о защите животных, используемых для научных целей, ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики», утвержденному приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии № 1700-ст от 20 ноября 2014 г.

ВКЛАД АВТОРОВ: А.К. Мартусевич, И.Е. Сазонова, А.Г. Соловьева, Н.Ю. Орлинская, В.В. Кононец, Л.Р. Диленян — разработка концепции и дизайна исследования; И.Е. Сазонова, А.Г. Соловьева, В.В. Кононец — сбор данных; А.К. Мартусевич, И.Е. Сазонова, А.Г. Соловьева — анализ и интерпретация результатов; А.К. Мартусевич, Л.Р. Диленян, Н.Ю. Орлинская — обзор литературы, проведение статистического анализа; А.К. Мартусевич, А.Г. Соловьева — составление черновика рукописи и формирование его окончательного варианта; В.В. Кононец, Л.Р. Диленян, Н.Ю. Орлинская — критический пересмотр черновика рукописи. Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой части работы.

✉ КОРРЕСПОНДИРУЮЩИЙ АВТОР: Мартусевич Андрей Кимович, доктор биологических наук, доцент, руководитель лаборатории медицинской биофизики Университетской клиники федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; профессор кафедры физиологии, биохимии животных и акушерства федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Нижегородский государственный агротехнологический университет». Адрес: пл. Минина, д. 10/1, г. Нижний Новгород, 603000, Россия. E-mail: cryst-mart@yandex.ru

Получена: 20.11.2023 / Получена после доработки: 08.08.2024 / Принята к публикации: 19.09.2024

Effect of ultrahigh frequency ozone therapy on oxidative metabolism in the blood of rats with ischemic skin flaps: A preclinical experimental randomized study

Andrew K. Martusevich^{1,2✉}, Irina E. Sazonova¹, Anna G. Soloveva³, Natalia Yu. Orlinskaya¹, Vladimir V. Kononets⁴, Levon R. Dilenyan¹

¹Privolzhsky Research Medical University, Minina str., 10/1, Nizhny Novgorod, 603000, Russia

²Nizhny Novgorod State Agrotechnological University, Gagarina str., 97, Nizhny Novgorod, 603117, Russia

³Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Gagarina str., 23, Nizhny Novgorod, 603022, Russia

⁴Nizhny Novgorod State Technical University named after R.E. Alekseev, Minina str., 24, Nizhny Novgorod, 603155, Russia

ABSTRACT

Background. Maintaining and restoring skin microcirculation in surgical flaps, as well as accelerating rehabilitation after skin flap transplantation, in order to mitigate the consequences of burns and injuries, remain a pressing issue. In addition to various timings and techniques for plastic surgery, physiotherapeutic approaches prove to be efficient and include low-intensity electromagnetic radiation in millimeter waves as their prominent techniques. In recent years, experts have paid an increasing attention to the application of low-intensity electromagnetic radiation across different frequency ranges for the enhancement of microcirculation in patients after surgical correction of burn consequences. However, this approach is yet to be further validated. **Objective.** To investigate the effect of different combinations of ultrahigh frequency electromagnetic radiation with ozone therapy on the oxidative metabolism of blood in rats using a model of ischemic skin flaps. **Methods.** A preclinical experimental randomized study was conducted on 100 adult male Wistar rats weighing between 200 and 250 grams. Five equal-sized groups of animals were formed in the study: Group 1: intact (no interventions), and Groups 2, 3, 4, and 5: after surgical intervention (modeling of ischemic skin flaps). Animals in Group 2 (control group) received no therapeutic procedures. Rats in Groups 3 and 5 underwent a 10-minute course of electromagnetic radiation exposure with a dose of 0.06 mJ for seven days. Animals in Group 3 were exposed to electromagnetic radiation of ultrahigh frequency with a range of 53–78 GHz. Animals in Group 4 received injections of ozonized saline solution (with a saturating ozone concentration in the ozonized oxygen mixture of 3000 µg/L) daily for 7 days, administered intraperitoneally at a volume of 1 mL. Group 5 underwent a combined treatment: daily exposure to ultrahigh frequency electromagnetic radiation along with intraperitoneal ozone therapy (the application modalities of these treatments were similar to those used in Groups 3 and 4, respectively). The intensity of lipid peroxidation, peroxide resistance in erythrocytes, and overall antioxidant system activity were assessed in order to investigate the balance of pro- and antioxidant systems in plasma and erythrocytes. Additionally, the study involved determination of the level of malondialdehyde content and evaluation of the activity of superoxide dismutase and catalase in erythrocytes. The obtained data were analyzed, using MS Office 2013 (Microsoft Corporation, USA) and Statistica 10 (StatSoft, USA). **Results.** The conducted analysis revealed an antioxidant effect from ultrahigh frequency electromagnetic radiation, with this effect being enhanced by ozone therapy. In addition, the study detected the inhibition of free radical oxidation under the ultrahigh frequency electromagnetic radiation and ozone therapy. **Conclusion.** Thus, the positive effects of the studied therapeutic factors manifest at the systemic level, as evidenced by the

optimization of biochemical parameters and indicators of oxidative metabolism in the plasma of animal blood. It has been established that ultrahigh frequency electromagnetic radiation, administered in a noise mode, exerts a regulatory effect on pro- and antioxidant systems in the body, as demonstrated in a model of transplanted skin flap. This intervention leads to a reduction in the severity of oxidative stress and an enhancement of antioxidant reserves in the blood. The observed effect is further amplified with the additional application of ozone therapy.

KEYWORDS: ultrahigh frequency, UHF, ozone therapy, blood, free radical oxidation, antioxidants, ischemia, skin flap

FOR CITATION: Martusevich A.K., Sazonova I.E., Soloveva A.G., Orlinskaya N.Yu., Kononets V.V., Dilenyan L.R. Effect of ultrahigh frequency ozone therapy on oxidative metabolism in the blood of rats with ischemic skin flaps: A preclinical experimental randomized study. *Kuban Scientific Medical Bulletin*. 2024;31(5):73–87. <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2024-31-5-73-87>

FUNDING: The authors declare that no funding was received for this study.

CONFLICT OF INTEREST: one of the authors — Martusevich A.K., Dr. Sci. (Med.), Assoc. Prof., is a member of editorial board of Kuban Scientific Medical Bulletin. The authors are not aware of any other potential conflict of interest relating to this manuscript.

DATA AVAILABILITY STATEMENT: Data supporting the findings of this study are available from the corresponding author upon request. The data and statistical methods presented in the paper have been statistically reviewed by the journal editor, a certified biostatistician.

COMPLIANCE WITH ETHICAL STANDARDS: The experimental study was approved by the Local Ethics Committee of the Privolzhsky Research Medical University (Minina str., 10/1, Nizhny Novgorod, 603000, Russia), Minutes No. 2 of February 17, 2017. The laboratory animal care has been organized in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki on the Animal Welfare, Directive 2010/63/EU “on the protection of animals used for scientific purposes” of 22 September 2010, GOST 33044-2014 “Principles of Good Laboratory Practice,” approved by the Federal Agency on Technical Regulating and Metrology (Order No. 1700-St, November 20, 2014).

AUTHOR CONTRIBUTIONS: A.K. Martusevich, I.E. Sazonova, A.G. Soloveva, N.Yu. Orlinskaya, V.V. Kononets, L.R. Dilenyan — concept statement and contribution to the scientific layout; I.E. Sazonova, A.G. Soloveva, V.V. Kononets — data collection; A.K. Martusevich, I.E. Sazonova, A.G. Soloveva — analysis and interpretation of the results; A.K. Martusevich, N.Yu. Orlinskaya, L.R. Dilenyan — literature review, statistical analysis; A.K. Martusevich, A.G. Soloveva — drafting the manuscript and preparing its final version; N.Yu. Orlinskaya, V.V. Kononets, L.R. Dilenyan — critical review of the manuscript. All authors approved the final version of the paper before publication and assume responsibility for all aspects of the work, which implies proper study and resolution of issues related to the accuracy and integrity of any part of the work.

✉ CORRESPONDING AUTHOR: Andrew K. Martusevich, Dr. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Head of the Medical Biophysics Laboratory, University Clinic, Privolzhsky Research Medical University; Prof., Department of Animals Physiology, Biochemistry and Obstetrics, Nizhny Novgorod State Agrotechnological University. Address: Minina str., 10/1, Nizhny Novgorod, 603000, Russia; E-mail: cryst-mart@yandex.ru

Received: 20.11.2023 / **Revised:** 08.08.2024 / **Accepted:** 19.09.2024

ВВЕДЕНИЕ

Ожоги разной степени тяжести остаются одной из распространенных и наиболее тяжелых травм у взрослых и детей, в РФ достигающей доли в 7% от общего травматизма [1–5]. Кроме того, серьезность ситуации часто усугубляется возникновением последствий в виде рубцовых деформаций кожи и других тканей, требующих хирургического лечения [6]. С целью коррекции последствий ожогов успешно применяется восстановительная кожная пластика, проводимая, в зависимости от локализации, площади и глубины дефекта, с использованием местных тканей (автопластика), свободного кожного лоскута или лоскута на постоянной или временной сосудистой ножке [6–8].

Известно, что ожоговая травма сама по себе связана с серьезными изменениями микроциркуляции, коррелиирующими с реологическими свойствами и составом крови [9], причем эти изменения остаются на долгий срок. В случае применения хирургического лечения ожогов и их последствий в виде рубцов происходит усугубление микроциркуляторных нарушений в области трансплантации. Выделение и перенос кожного лоскута в любом случае связаны с перфузионными нарушениями, степень тяжести которых зависит от локализации, типа лоскута и способа пластики. Так, наиболее выраженные изменения наблюдаются при свободной пластике кожи нижних конечностей [10–12]. Использование кожного лоскута на сосудистой ножке логично связано с наименьшими микроциркуляторными нарушениями по сравнению со свободными перфорированными лоскутами [14, 15]. Было показано, что у пациент-

тов с ожоговой травмой, подвергшихся аутодермопластике, показатели микрокровотока существенно снижаются (более чем в два раза по сравнению с аналогичными показателями у здоровых лиц) уже на 5-е сутки после лечения, и это снижение сохраняется длительно в реабилитационном периоде [16, 17]. Более того, обнаруженные стойкие изменения микроциркуляции в оперированных лоскутах могут быть предиктором худшей приживляемости кожного трансплантата в послеоперационном периоде [18]. По некоторым данным, в трансплантированном лоскуте существенно нарушается способность к эндотелиально-зависимой вазодилатации, причем эти нарушения сохраняются в течение 4 лет после операции и, возможно, являются постоянными [19].

В последние десятилетия активно ведутся исследования возможностей сохранения и восстановления микроциркуляции кожи в оперированном лоскуте и ускорения реабилитации после пересадки кожного лоскута с целью ликвидации последствий ожогов [20]. Наряду с использованием разных сроков и способов пластики [6] прекрасную эффективность демонстрируют физиотерапевтические методики [7]. Поскольку перфузия оперированного лоскута обычно демонстрирует тенденцию к улучшению в период 1–14 дней после операции [21], проведение физиотерапии может быть наиболее результативным именно в эти сроки.

Среди многообразия физиотерапевтических методик особое место занимает электромагнитное излучение низкой интенсивности (НИ ЭМИ) миллиметрового диапазона волн. В большом количестве экспериментальных

и клинических исследований убедительно доказана эффективность НИ ЭМИ при воспалительных процессах [22, 23], нарушениях нервной трофики и проводимости [23], показан антитромиферативный и репаративный эффект НИ ЭМИ на соединительную и костную [24–26] ткани. В связи с этим особенную актуальность приобретает активно изучаемое в последние годы применение НИ ЭМИ в разных диапазонах частот для улучшения микроциркуляции у пациентов с хирургической коррекцией последствий ожогов. Пилотные экспериментальные исследования продемонстрировали перспективность методики в данной клинической ситуации [25, 27], однако данное направление требует дальнейшего подтверждения.

Цель исследования — изучение влияния различных вариантов экспериментального электромагнитного излучения крайне высокой частоты в сочетании с озонотерапией на состояние окислительного метаболизма крови крыс на модели ишемизированного кожного лоскута.

МЕТОДЫ

Экспериментальные животные

Эксперимент выполнен на 100 половозрелых в возрасте от 90 до 100 дней крысах-самцах линии Wistar массой от 200 до 250 г, полученных из питомника «Столбовая» — филиала федерального государственного бюджетного учреждения науки «Научный центр биомедицинских технологий федерального медико-биологического агентства» в осенне-зимний период.

Размещение и содержание

Животные содержались в условиях вивария Университетской экспериментально-биологической клиники федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО ПИМУ Минздрава России) (далее — виварий) в соответствии с руководством ARRIVE (Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments) и правилами работы с животными на основе положений Хельсинкской декларации и рекомендаций, содержащихся в Директиве ЕС 86/609/ECC [28] и Конвенции Совета Европы по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей, на стандартном водном и пищевом рационе со свободным доступом к пище и воде, по 2 животных в клетке, при освещении 12/12 часов.

Дизайн исследования

Работа отнесена к рандомизированным исследованиям. Оперативные вмешательства, введение препаратов и забор биологического материала осуществлялось в условиях вивария. Лабораторный этап исследований проведен на базе Лаборатории медицинской биофизики Университетской клиники ФГБОУ ВО ПИМУ Минздрава России. Блок-схема дизайна исследования представлена на рисунке 1.

Объем выборки

Животные были разделены на 5 групп, состоящих из 20 особей, по методу «конвертов». Группа 1 — интакт-

ная (без каких-либо манипуляций), группы 2, 3, 4 и 5 — с оперативным вмешательством. Животные группы 2 (контрольная) не получали каких-либо лечебных процедур. Крысам 3-й и 5-й опытных групп в течение 7 дней проводили курсовое 10-минутное воздействие ЭМИ с дозой 0,06 мДж. Животные третьей группы получали облучение ЭМИ с диапазоном частот 53–78 ГГц, животные четвертой опытной группы — внутрибрюшинно инъекции озонированного физиологического раствора (насыщающая концентрация озона в озоно-кислородной смеси — 3000 мкг/л) ежедневно в течение 7 дней в объеме 1 мл. Крысам 5-й группы производили комбинированное воздействие: ежедневную обработку источником ЭМИ КВЧ и внутрибрюшинную озонотерапию (режимы применения воздействий были аналогичны использованным в 3-й и 4-й опытных группах соответственно).

Предварительно проведенный анализ на нормальность распределений для величин возраста и массы крыс в группах по критерию Колмогорова — Смирнова показал, что значимость нормального закона распределения числовых значений по возрасту не отклоняется во всех группах крыс ($p > 0,05$). В случае распределения числовых значений по массе в одной группе (с номером 5) соответствие нормальному закону отклонено ($p < 0,05$). Для доказательства того факта, что возраст и масса крыс сопоставимы в группах, применялся непараметрический метод сравнения по критерию Краскела — Уоллиса для сравнения медиан массы в группах, а для сравнения средних значений возраста в группах применяли параметрический однофакторный дисперсионный анализ. Результаты проверки однородности групп сравнения приведены в таблице 1.

Для возраста различия в средних значениях и для массы различия в значениях медиан для различных групп крыс статистически не значимы: $p = 0,150$ и $p = 0,318$ соответственно.

Критерии соответствия

Критерии включения

В исследование включались крысы линии Wistar массой от 200 до 250 г, мужского пола, в возрасте трех месяцев (от 90 до 100 дней), без видимых патологий в физическом развитии и травм.

Критерии невключения

Крысы линии Wistar массой менее 200 и более 250 г, женского пола, в возрасте менее и более трех месяцев (менее 90 и более 100 дней); с видимыми патологиями в физическом развитии, травмами, проявлениями кожных заболеваний.

Критерии исключения

Гибель животного в ходе проведения оперативного вмешательства, дальнейшего проведения процедур и наблюдения.

Рандомизация

В соответствии с критериями включения было отобрано 100 животных. В ходе исследования были сформированы пять групп животных, включение в них крыс осуществлялось с помощью рандомизации методом случайных чисел. В этом методе каждому животному

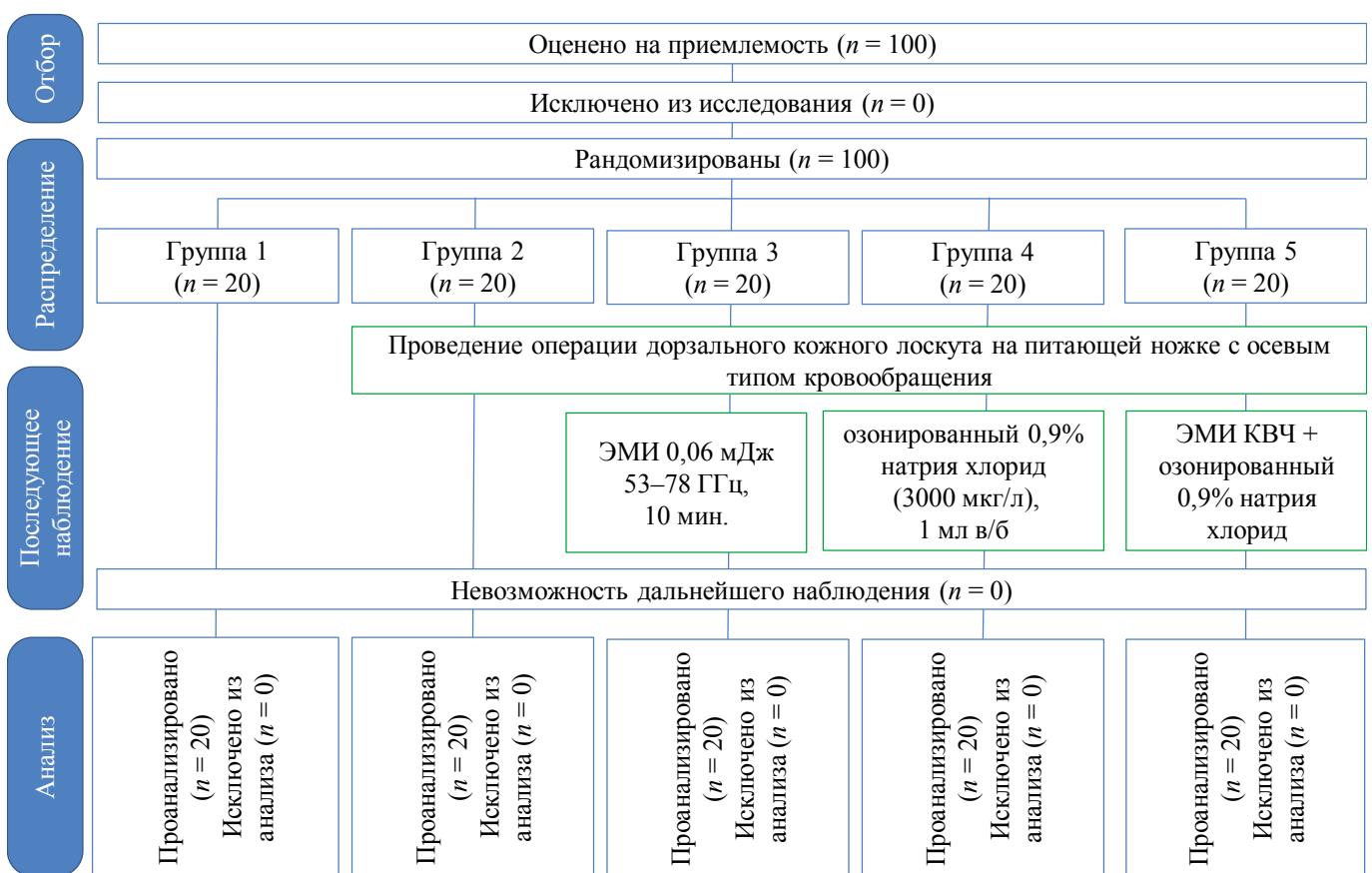


Рис. 1. Блок-схема дизайна исследования

Примечание: блок-схема составлена авторами (согласно рекомендациям ARRIVE). Сокращения: ЭМИ — электромагнитное излучение; ЭМИ КВЧ — электромагнитное излучение крайне высокой частоты.

Fig. 1. Schematic diagram of the research design

Note: performed by the authors (according to ARRIVE recommendations). Abbreviations: ЭМИ — electromagnetic radiation; ЭМИ КВЧ — ultrahigh frequency electromagnetic radiation.

Таблица 1. Медианы, первый и третий квартили (Me ($Q1-Q3$)) для массы и средние значения со стандартными отклонениями ($M \pm SD$) для возраста крыс в исследуемых группах

Table 1. Medians, first and third quartiles (Me ($Q1-Q3$)) for weight and mean values with standard deviations ($M \pm SD$) for the age of rats in the studied groups

Величины	Группа 1 (n = 20)	Группа 2 (n = 20)	Группа 3 (n = 20)	Группа 4 (n = 20)	Группа 5 (n = 20)	Критерий значимости
Возраст, дни	94,45 ± 2,74	94,30 ± 2,62	93,90 ± 2,22	94,30 ± 2,83	94,65 ± 2,58	p = 0,150*
Масса, г	225,0 (215,3–238,3)	235,5 (217,0– 243,5)	225,5 (215,3–239,3)	225,0 (209,0–240,3)	223,0 (218,8–245,5)	p = 0,318**

Примечания: таблица составлена авторами; * по критерию Фишера, ** по критерию Краскела — Уоллиса.

Notes: the table was compiled by the authors; *according to Fischer's criterion, **according to Kruskal-Wallis test.

присвоен порядковый номер в виде натурального числа от 1 до 100. С помощью надстройки Excel «Анализ данных», используя опцию «Выборка», формировали из натуральных чисел, соответствующих номеру животного, пять групп по 20 членов. Выбор уже групп для назначения определенного вмешательства осуществляли с помощью метода «конвертов». В закрытую систему помещали пять записок с номерами от 1 до 5. Извлечение записи с номер 1 указывало на отсутствие вмешательства. Остальным животным осуществлялось оперативное вмешательство — моделирование ишемизированного кож-

ного лоскута. В послеоперационном периоде на крыс, распределенных ранее в контрольную группу (которой соответствовал номер в записке 2) и три опытные группы сравнения (номера в записках 3, 4 и 5), оказывали различные воздействия

Обеспечение анонимности данных

Информацией о распределении животных на группы располагал руководитель исследования А. К. Мартусевич. Оценка результатов и анализ полученных данных проводились коллективом авторов без введения дополнительных лиц.

Итоговые показатели (исходы исследования)

Итоговым показателем исследования явилась оценка окислительного метаболизма крови крыс на модели ишемизированного кожного лоскута под влиянием различных вариантов экспериментальной терапии.

Экспериментальные процедуры

У крыс групп 2 (контрольная), 3, 4 и 5 на эпилированной поверхности спины было осуществлено оперативное вмешательство под внутримышечным наркозом (Золетил + Ксила). Предварительно за сутки до оперативного вмешательства проводилась эпилияция волосяного покрова. Операционное поле обрабатывалось спиртовым раствором хлоргексидина. После разметки на спинке крысы выкраивался лоскут, включающий в себя кожу и собственную мышцу кожи размером 3×10 см с основанием на горизонтальной линии, соединяющей углы лопаток. Затем лоскут без натяжения укладывался на место и пришивался узловыми швами атравматичным швовым материалом 4.0 (рис. 2). Это позволяло сформировать кожный

лоскут на питающей ножке с осевым типом кровообращения и приводило к возникновению острой ишемии с образованием некроза в дистальной части лоскута, что позволяло использовать данную модель для изучения влияния физических факторов на «выживаемость» лоскута.

В контрольной группе 2 ($n = 20$) после операции животные оставались под наблюдением, не получая каких-либо лечебных процедур. Крысам трех других групп в течение 7 дней проводили курсовое лечебное воздействие. Животные, вошедшие в 3-ю группу ($n = 20$), получали 10-минутное облучение ЭМИ с дозой 0,06 мДж и с диапазоном частот 53–78 ГГц, соответствующим крайне высокочастотному диапазону (КВЧ). В 4-й группе ($n = 20$) крысы получали внутрибрюшинно инъекции озонированного физиологического раствора (насыщающая концентрация озона в озоно-кислородной смеси — 3000 мкг/л) также ежедневно в течение 7 дней в объеме 1 мл. Озон в кислород-озоновой смеси получали от озонатора «Медозонс-Систем» с дозой O_3 -0,6 мкг на одно животное. Концентрацию O_3 в физиологическом растворе определяли

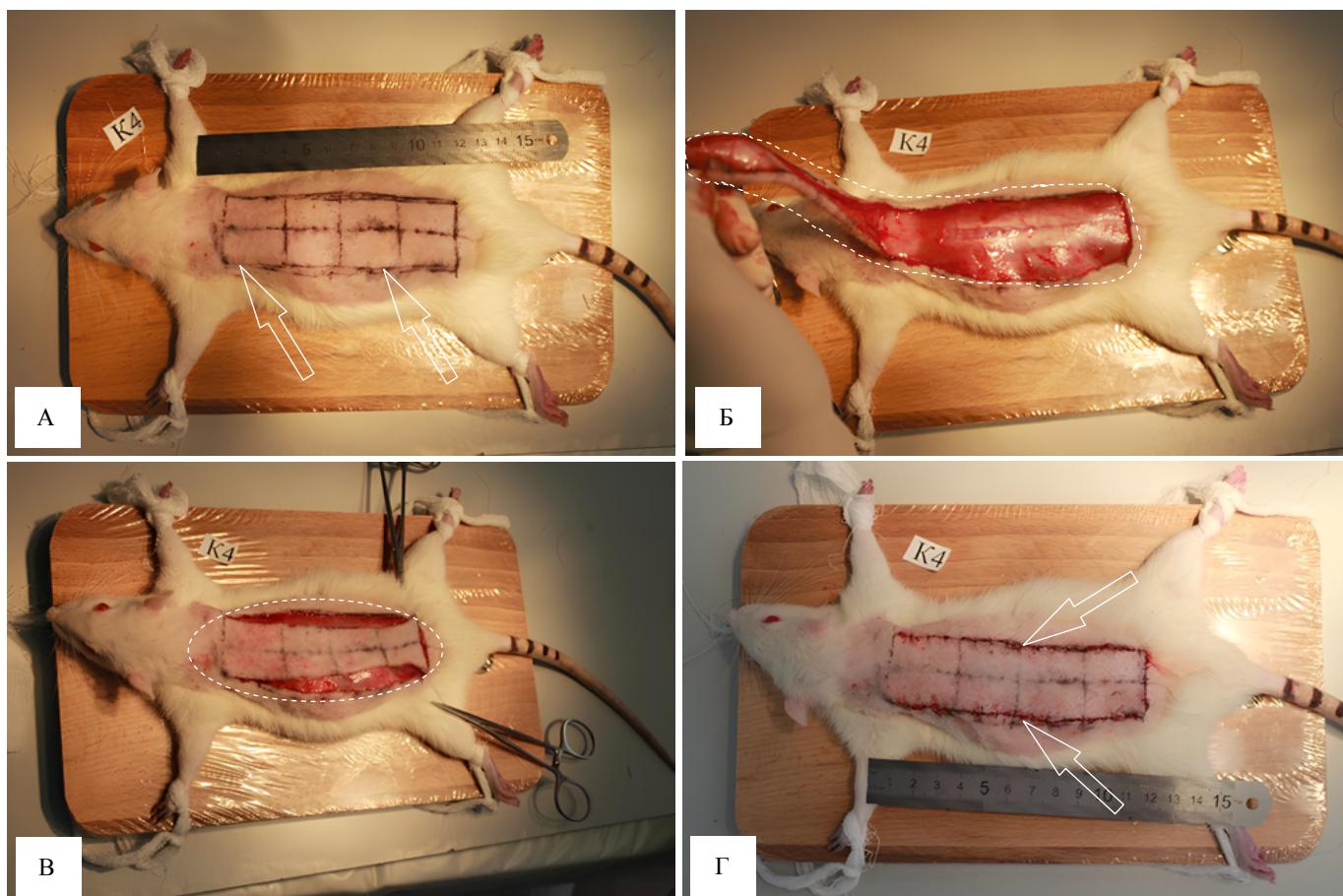


Рис. 2. Этапы операции дорзального кожного лоскута на питающей ножке с осевым типом кровообращения: А — разметка (отмечено стрелками); Б — выкраивание и отсепаровка лоскута (выделено фигурой); В — укладывание лоскута (выделено фигурой); Г — фиксация кожного лоскута (отмечено стрелками).

Примечание: рисунок выполнен авторами.

Fig. 2. Stages of the dorsal skin flap operation on a vascular pedicle with axial blood circulation: А — marking (marked with arrows); Б — excision and detachment of the flap (marked with a figure); В — placement of the flap (marked with a figure); Г — fixation of the flap (marked with arrows).

Note: the figure was created by the authors.

с помощью анализатора озона в жидкких средах ИКОЖ-5 (сертификат соответствия RU.C. 31.001.A № 29545-05, г. Киров). Включенным в 5-ю группу животным ($n = 20$) производили комбинированное воздействие: ежедневную обработку источником ЭМИ КВЧ и внутрибрюшинную озонотерапию (режимы применения воздействий были аналогичны использованным в 3-й и 4-й группах). Содержание животных после операционного вмешательства было одиночным. Воздействие ЭМИ начинали в день оперативного вмешательства и продолжали ежедневно до седьмых суток после оперативного вмешательства. Во время облучения крысы 3-й и 5-й групп фиксировались в пенале из органического стекла в положении лежа на животе. В качестве источника низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ использовали серийно выпускаемый аппарат «АМ-ФИТ-0,2/10-01» с шумовым ЭМИ 53–78 ГГц (ООО «Физ-Тех», Н. Новгород, Россия). По уровню мощности (1 мВт) и спектру сигнала генератор прибора близок к собственным излучениям биообъекта, что резко снижает вероятность как близких, так и отдаленных побочных эффектов [27]. Спектральная плотность мощности шума прибора (4×10^{-17} Вт/Гц) характеризуется высокой однородностью (± 3 дБ), что предполагает большую повторяемость и однозначность трактовки результатов воздействия. В работе использовали цилиндрическую насадку аппарата таким образом, чтобы расстояние между концом волновода и объектом составляло 2–3 мм.

Оценка окислительного метаболизма крови осуществлялась в биологической жидкости (крови). У животных всех групп проводили получение образцов крови из подъязычной вены, причем у крыс первой (интактной) группы — однократно, а у представителей остальных групп — кратно (на 3, 7 и 14-е сутки). Для исследования баланса про- и антиоксидантных систем использовали кровь, стабилизированную цитратом натрия (1:9).

В плазме и взвеси отмытых эритроцитов в физиологическом растворе (1:4) изучали активность про- и антиоксидантных систем с помощью высокочувствительного метода Fe-индукционной биохемилюминесценции на биохемилюминометре БХЛ-06 (Н. Новгород). В качестве оценочных параметров использовали: светосумму биохемилюминесценции за 30 с, которую принято рассматривать как индикатор интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ) в плазме (определяется в усл. ед. ПОЛ) и перекисную резистентность в эритроцитах (ПРЭ) (также выражается в усл. ед. ПРЭ); общую активность антиоксидантных систем (АОА), рассчитываемую как тангенс угла наклона кинетической кривой хемилюминесценции $\text{tg } 2\beta$ (выражается в усл. ед. АОА) [29]. Для оценки интенсивности процесса ПОЛ определяли уровень содержания вторичного продукта свободнорадикального окисления — малонового диальдегида (МДА) (мМоль/л) в плазме и гемолизате отмытых эритроцитов (1:10) по методу M. Uchiyama, M. Miura [30]. Активность СОД определяли в гемолизате отмытых эритроцитов (1:10) по ингибиции образования продукта аутоокисления адреналина (ЕД/мг белка). Для оценки активности каталазы в гемолизате отмытых эритроцитов

(1:100) использовали спектрофотометрический метод [29]. Расчет удельной активности ферментов проводили по концентрации белка модифицированным методом Лоури.

Уход за животными и мониторинг

Животные содержались в условиях вивария по со свободным доступом к пище и воде, после оперативного вмешательства животные экспериментальных групп (2–5) содержались по 1 животному в клетке. По окончании исследований крыс из эксперимента выводили под общей анестезией с применением препаратов Золетил в дозировке 60 мг/кг и ксилазина гидрохлорид — 6 мг/кг, внутримышечно.

Статистические процедуры

Принципы расчета размера выборки

Предварительный расчет выборки не производился.

Статистические методы

Фактический материал, полученный при проведении исследований, был обработан методом вариационной статистики. Числовые выборки проверялись на соответствие нормальному закону распределения с помощью критерия Колмогорова и Смирнова. При описательной статистике распределений, которые соответствовали нормальному закону распределения, вычисляли средние величины (M) и среднеквадратическое отклонение (SD) в виде $M \pm SD$. При описательной статистике распределений, которые не соответствовалициальному закону распределения, вычисляли медиану (Me), первый ($Q1$) и третий ($Q3$) квартили в виде $Me (Q1-Q3)$. Попарно сравнивали с помощью критерия Стьюдента для независимых выборок с нормальным распределением чисел выборки (для зависимых выборок — парный критерий Стьюдента) или с помощью критерия Манна — Уитни для независимых выборок без нормального распределения чисел выборки (для зависимых выборок — критерий Вилкоксона). При сравнении всех групп для групп с нормальным законом распределения применяли однофакторный дисперсионный анализ по критерию Фишера и для групп с отсутствием нормального закона распределения ранговый однофакторный анализ по критерию Краскела — Уоллиса. Уровень статистической значимости $p \leq 0,05$. Расчеты проводились с использованием программных комплексов MS Office 2013 (Microsoft Corporation, США), «Statistica», v. 10 (StatSoft, США). Результаты обработки первичных данных представлены в виде гистограмм.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Установлено, что у крыс при моделировании кожного дефекта и замещении его аутолоскутом имеет место достаточно существенное, статистически значимое повышение интенсивности свободнорадикальных процессов (на 51,8% относительно здоровых животных; $p < 0,05$; рис. 3). Это создает предпосылки для развития вторичного окислительного повреждения клеток и тканей, возникающего в ответ на наличие дефекта кожного покрова.

Выявлено, что различные варианты примененной экспериментальной терапии оказывают неодинаковое влияние на интенсивность перекисного окисления липидов. Так, уже на 3-и сутки эксперимента применение КВЧ-излучения существенно снижает уровень ПОЛ (на 11,3% отно-

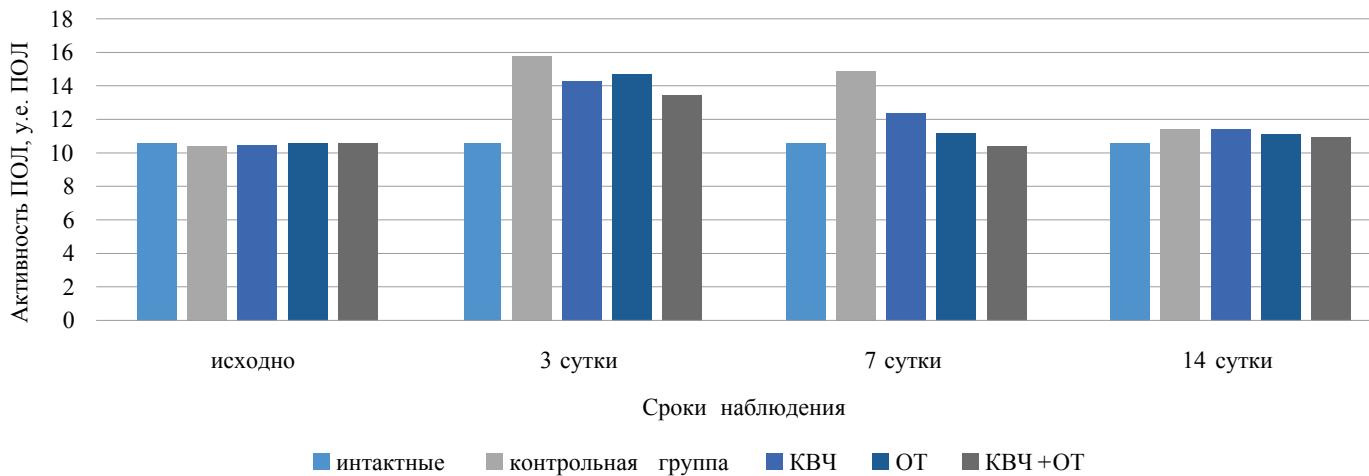


Рис. 3. Средние значения интенсивности липопероксидации в плазме крови крыс исследуемых групп при различных сроках наблюдения

Примечание: рисунок выполнен авторами. Сокращения: КВЧ — электромагнитное излучение крайне высокой частоты; ОТ — озонотерапия; КВЧ+ОТ — сочетание КВЧ-терапии и озонотерапии; ПОЛ — перекисное окисление липидов.

Fig. 3. Mean values of lipid peroxidation intensity in the plasma of rats from the studied groups at different observation periods

Note: the figure was created by the authors. Abbreviations: КВЧ — electromagnetic radiation in the high-frequency range; ОТ — ozone therapy; КВЧ+ОТ — combination of ultrahigh frequency (UHF) and ozone therapy; ПОЛ — lipid peroxidation.

сительно уровня, характерного для интактных животных; $p < 0,05$). При этом озонотерапия демонстрирует более высокий уровень интенсивности свободнорадикальных процессов (14,72 усл. ед.), не имеющий значимых различий с группой, получавшей КВЧ-терапию, но и не отличавшийся от животных контрольной группы ($p > 0,05$ для обоих случаев). Наиболее низкий уровень показателя в данной точке наблюдения (13,43 усл. ед.) отмечали при использовании комбинации КВЧ-излучения и системной озонотерапии, позволявшей снижать интенсивность перекисного окисления липидов в плазме крови животных на 14,7% относительно крыс без лечения ($p < 0,05$), однако уровня интактной группы также достигнуть не удалось. Через 7 дней после моделирования кожного дефекта в контрольной группе не наблюдали выраженной тенденции к восстановлению интенсивности липопероксидации, она оставалась выше значений, характерных для интактных крыс, 14,86 и 10,58 усл. ед. соответственно (+43,3%; $p < 0,05$). Напротив, применение всех вариантов экспериментальной терапии обеспечивало уменьшение выраженности гипероксидации, наиболее существенное при использовании внутрибрюшинного введения озонированного физиологического раствора (-24,8%) и его сочетания с КВЧ-терапией (-30,2%; $p < 0,05$ для обоих воздействий по сравнению с контрольной группой). Кроме того, следует подчеркнуть, что животные, получавшие озонотерапию, также статистически не отличались по значениям интенсивности липопероксидации от интактных. К завершению эксперимента (на 14-е сутки после нанесения травмы) все крысы демонстрировали восстановление уровня свободнорадикальных процессов, о чем свидетельствует отсутствие статистически значимых различий относительно животных, которым не формировали кожный лоскут.

Вторым компонентом анализа служила общая антиоксидантная активность плазмы крови животных (рис. 4). Выявлено, что у крыс контрольной группы данный параметр снижен на 52,8% относительно здоровых животных ($p < 0,05$). В совокупности с нарастанием интенсивности липопероксидации у оперированных крыс это свидетельствует о наличии у них окислительного стресса, который нуждается в патогенетической коррекции. Возможности трех вариантов экспериментальной терапии и были изучены в рамках исследования. Показано, что все тестируемые факторы способствовали увеличению антиоксидантной активности биологической жидкости уже к 3-м суткам эксперимента, причем даже изолированное применение озонотерапии и электромагнитного излучения обеспечило выраженное повышение уровня показателя по сравнению с животными контрольной группы до 0,756 и 1,004 усл. ед. соответственно (+76,2 и +134,0% для указанных факторов соответственно; $p < 0,01$ для обоих случаев). При этом использование только КВЧ-обработки не позволило достигнуть уровня интактных крыс ($p < 0,05$), а внутрибрюшинное введение озона обеспечило нормализацию рассматриваемого показателя.

Интересно, что сочетание лечебных воздействий способствовало достижению кооперативного эффекта уже в раннем посттравматическом периоде, что проявилось в нарастании антиоксидантного потенциала плазмы крови в 2,94 раза по сравнению с животными, которым моделировали формирование кожного лоскута (с 0,429 до 1,261 усл. ед.), и на 38,6% — относительно здоровых крыс ($p < 0,05$). С учетом того, что в этом режиме фиксировали минимальную степень повышения интенсивности липопероксидации, можно утверждать, что он дает возможность реализовать максимально полный антиоксидантный эффект и купировать окислительный стресс.

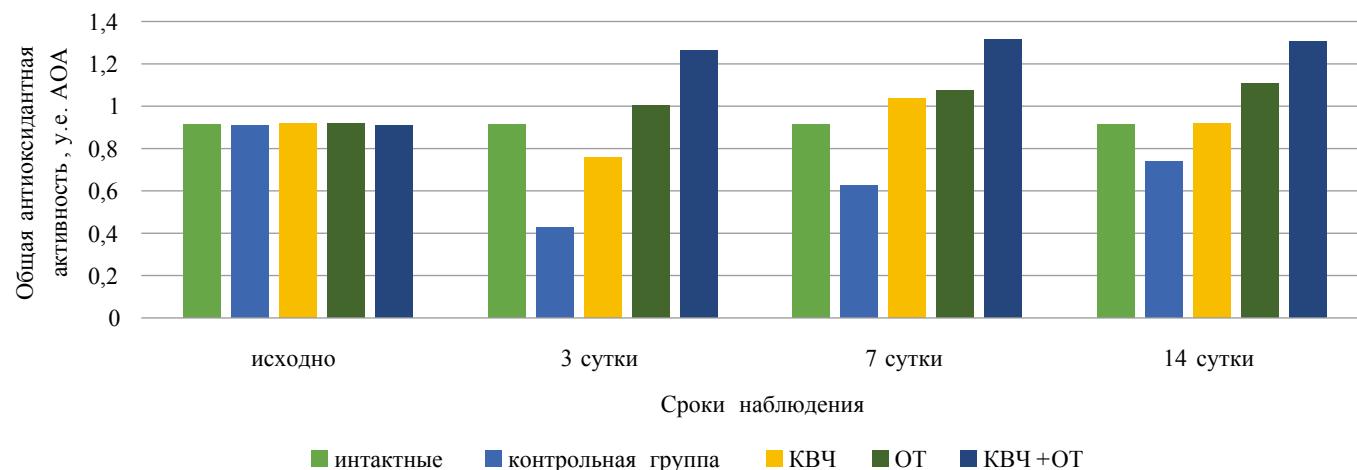


Рис. 4. Средние значения общей антиоксидантной активности плазмы крови крыс исследуемых групп при различных сроках наблюдения

Примечание: рисунок выполнен авторами. Сокращения: КВЧ — электромагнитное излучение крайне высокой частоты; ОТ — озонотерапия; КВЧ+ОТ — сочетание КВЧ-терапии и озонотерапии; АОА — активность антиоксидантных систем.

Fig. 4. Mean values of total antioxidant activity in the plasma of rats from the studied groups at various observation periods
Note: the figure was created by the authors. Abbreviations: КВЧ — electromagnetic radiation in the high-frequency range; ОТ — ozone therapy; КВЧ+ОТ — combination of UHF and ozone therapy; АОА — antioxidant system activity.

В более поздние сроки в отсутствие дополнительного лечения происходила лишь частичная коррекция нарушений окислительного метаболизма крови, о чем свидетельствует сохранение общей антиоксидантной активности плазмы крови на уровне 68,7 и 81,5% от значений, характерных для крыс интактной группы, на 7-й и 14-й день эксперимента соответственно ($p < 0,05$ для обоих случаев). Все примененные варианты терапии позволяли купировать данный дисбаланс про- и антиоксидантных факторов плазмы крови, однако наиболее эффективной оказалась комбинация локальной обработки лоскута КВЧ-излучением и системной озонотерапии, которая обеспечивала поддержание антиоксидантного потенциала биологической жидкости на уровне существенно более высоком по сравнению с физиологическим (+43–45 % относительно крыс интактной группы; $p < 0,05$).

Также проведена оценка сдвигов концентрации вторичного продукта липопероксидации — малонового диальдегида — в плазме крови крыс сформированных групп (рис. 5). Установлено, что только у оперированных животных, получавших исключительно базовое лечение, на 3-и сутки эксперимента имело место выраженное нарастание данного показателя по сравнению с уровнем, характерным для здоровых крыс (+58,1%; $p < 0,05$). В остальных группах наблюдали более низкую концентрацию рассматриваемого метаболита относительно уровня животных контрольной группы, однако она статистически значимо превышала значения, характерные для интактных крыс ($p < 0,05$). Следует отметить, что наиболее выраженное нормализующее влияние на изучаемый показатель наблюдали при комбинированном воздействии, что полностью соответствует динамике интенсивности свободнорадикальных процессов и антиоксидантного потенциала биологической жидкости. Следовательно, подобный вариант, включающий одновременное проведение курсов КВЧ-те-

рапии и озонотерапии, обеспечивает максимальный антиоксидантный системный эффект.

В дальнейшем, к 7-м суткам, уровень малонового диальдегида в плазме крови животных нормализовался не только при комбинированном лечении, но и при изолированном внутрибрюшинном применении озонированного физиологического раствора, тогда как КВЧ-излучение в форме монотерапии не обеспечивает подобного эффекта, что и обуславливает патогенетическую целесообразность его дополнения системной озонотерапией. Наконец, в последней контрольной точке (на 14-е сутки после формирования кожного лоскута) уровень оцениваемого вторичного продукта липопероксидации восстанавливался при всех вариантах экспериментальной терапии, оставаясь повышенным лишь у крыс контрольной группы.

Вторым компонентом анализа состояния окислительно-метаболизма крови служила оценка интенсивности свободнорадикальных процессов в мембранах эритроцитов. С этой целью у животных всех групп определяли перекисную резистентность эритроцитов, концентрацию малонового диальдегида в них, а также активность антиоксидантных ферментов: супероксиддисмутазы и каталазы. Установлено, что перекисная резистентность эритроцитов (ПРЭ) у крыс контрольной группы изменяется согласованно с уровнем перекисного окисления липидов в плазме крови, оставаясь на повышенных значениях на протяжении всего эксперимента. Так, на 3-и сутки после моделирования кожного дефекта данный параметр увеличивается на 48,5% относительно интактных животных ($p < 0,05$) (рис. 6).

Применение экспериментальной терапии значимо уменьшает выраженность данной тенденции, но перекисная резистентность эритроцитов остается на более высоком уровне по сравнению с интактными животными ($p < 0,05$ как для изолированного использования электромагнитного

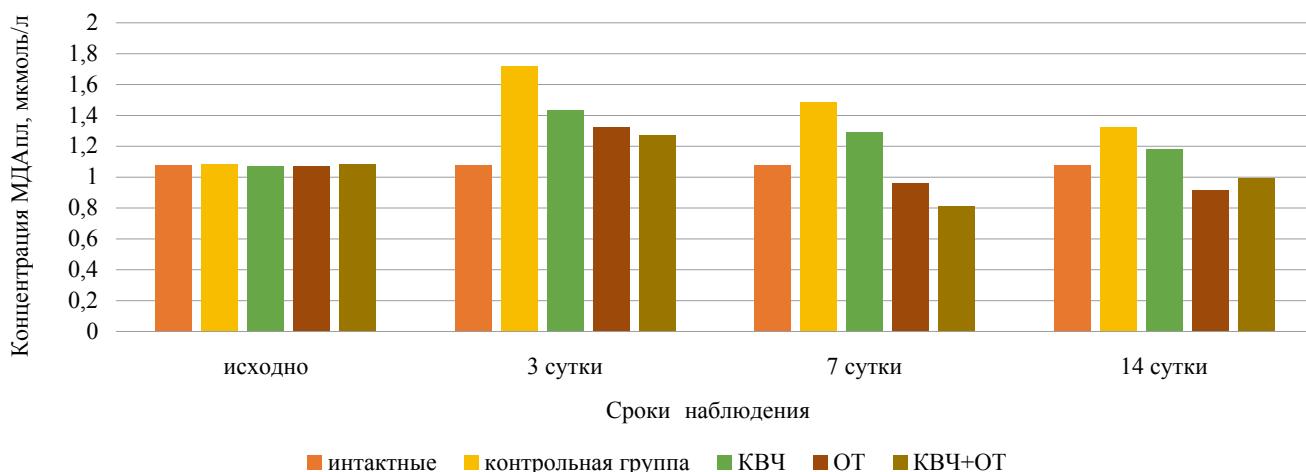


Рис. 5. Средние значения концентрации малонового диальдегида в плазме крови крыс исследуемых групп при различных сроках наблюдения

Примечание: рисунок выполнен авторами. Сокращения: КВЧ — электромагнитное излучение крайне высокой частоты; ОТ — озонотерапия; КВЧ+ОТ — сочетание КВЧ-терапии и озонотерапии; МДАпл — концентрации малонового диальдегида в плазме крови.

Fig. 5. Mean values of malondialdehyde concentration in the plasma of rats from the studied groups at various observation periods

Note: the figure was created by the authors. Abbreviations: КВЧ — electromagnetic radiation in the high-frequency range; ОТ — ozone therapy; КВЧ+ОТ — combination of UHF and ozone therapy; МДАпл — malondialdehyde concentration in plasma.

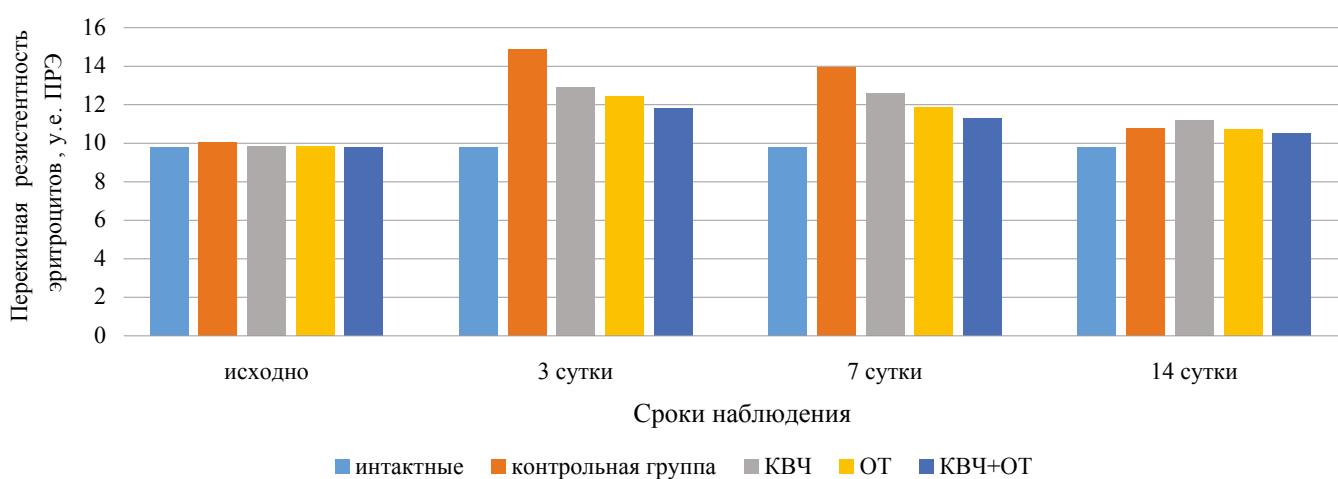


Рис. 6. Средние значения перекисной резистентности эритроцитов крыс исследуемых групп при различных сроках наблюдения

Примечание: рисунок выполнен авторами. Сокращения: КВЧ — электромагнитное излучение крайне высокой частоты; ОТ — озонотерапия; КВЧ+ОТ — сочетание КВЧ-терапии и озонотерапии; ПРЭ — перекисная резистентность эритроцитов.

Fig. 6. Mean erythrocyte peroxide resistance values in rats from the studied groups at various observation periods

Note: the figure was created by the authors. Abbreviations: КВЧ — electromagnetic radiation in the high-frequency range; ОТ — ozone therapy; КВЧ+ОТ — combination of UHF and ozone therapy; ПРЭ — erythrocyte peroxide resistance.

излучения КВЧ-диапазона или внутрибрюшинного введения озонированного физиологического раствора, так и для их комбинации). При этом уровень параметра несущественно варьирует в зависимости от конкретного варианта лечения. На более поздних этапах (7-е сутки) приведенные соотношения сохраняются, но слаживаются благодаря подключению восстанавливющихся компенсаторных механизмов, в первую очередь ферментных антиоксидантных систем, преимущественно представленных супероксиддисмутазой и каталазой. Наконец, по завершении

эксперимента (на 14-е сутки после моделирования кожного лоскута) не наблюдало значимых различий как у контрольной, так и у всех основных групп относительно интактных животных. Результаты биохемилюминесцентного анализа, позволившие определить перекисную резистентность эритроцитов, подтверждали путем оценки концентрации малонового диальдегида в данных форменных элементах крови крыс (рис. 7).

Выявлено, что сдвиги уровня рассматриваемого метаболита полностью соответствуют тенденциям, обнару-

женным для перекисной резистентности эритроцитов. При этом обращает на себя внимание тот факт, что по концентрации данного соединения отчетливо просматриваются преимущества комбинированной схемы, в наиболее полной степени обеспечивающие нормализацию параметра в самые ранние сроки исследования (на 3-и сутки наблюдения) относительно изолированного применения КВЧ-излучения и системной озонотерапии ($p < 0,05$ для обоих воздействий).

С целью расшифровки механизмов действия рассматриваемых физико-химических лечебных факторов на эритроциты крыс нами была проведена оценка каталитических свойств основных антиоксидантных ферментов: супероксиддисмутазы (рис. 8) и каталазы (рис. 9).

Обнаружено, что моделирование обширного кожного дефекта сопровождается угнетением энзиматической активности обоих ферментов с их постепенным восстановлением к 14-м суткам эксперимента, однако ни по одному

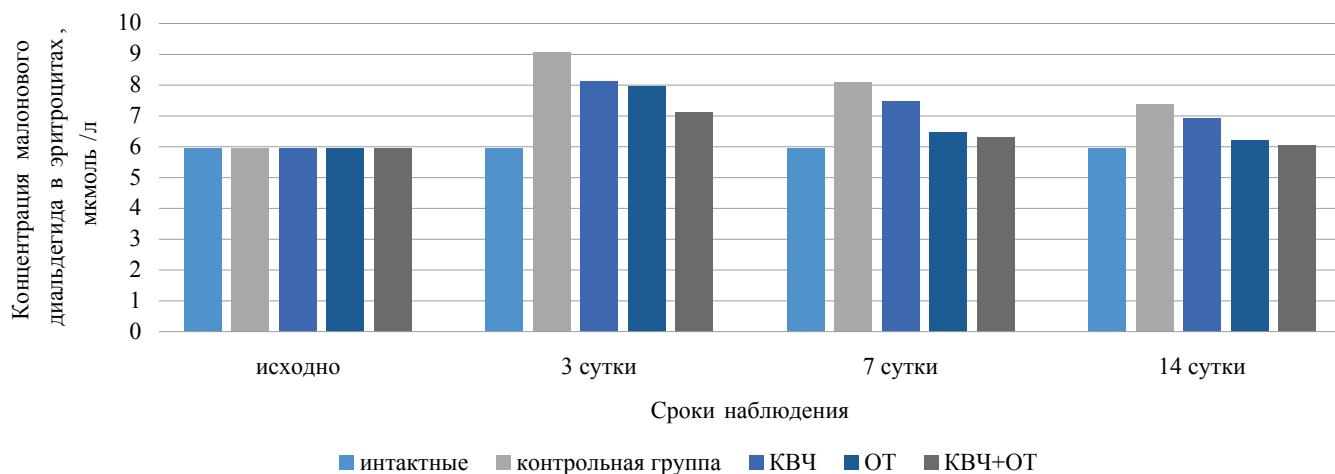


Рис. 7. Средние значения концентрации малонового диальдегида в эритроцитах крыс исследуемых групп при различных сроках наблюдения.

Примечание: рисунок выполнен авторами. Сокращения: КВЧ — электромагнитное излучение крайне высокой частоты; ОТ — озонотерапия; КВЧ+ОТ — сочетание КВЧ-терапии и озонотерапии.

Fig. 7. Mean values of malondialdehyde concentration in the erythrocytes of rats from the studied groups at various observation periods

Note: the figure was created by the authors. Abbreviations: КВЧ — electromagnetic radiation in the high-frequency range; ОТ — ozone therapy; КВЧ+ОТ — combination of UHF and ozone therapy.

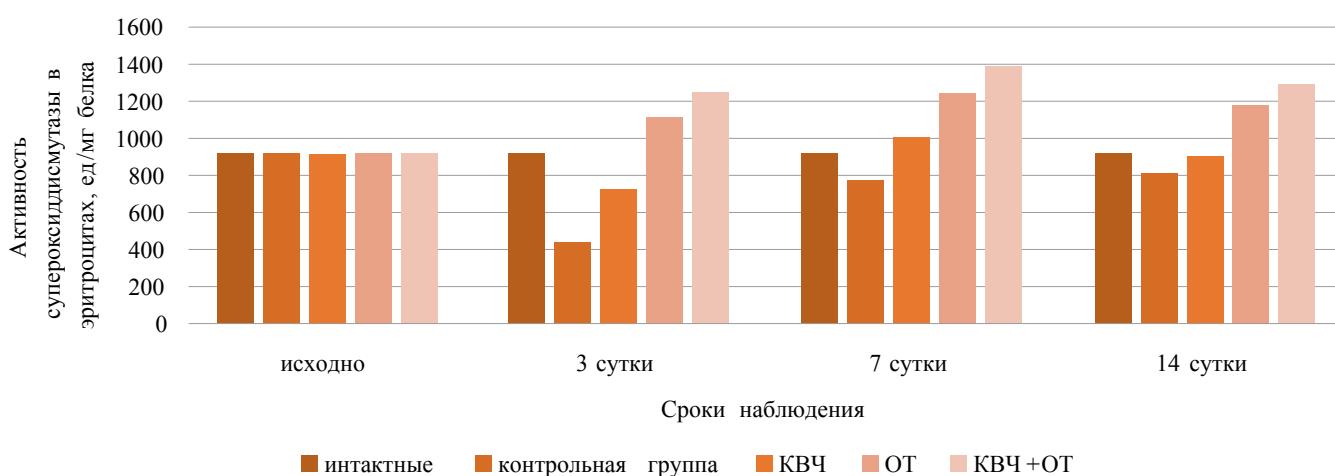


Рис. 8. Средние значения каталитической активности супероксиддисмутазы в эритроцитах крыс исследуемых групп при различных сроках наблюдения.

Примечание: рисунок выполнен авторами. Сокращения: КВЧ — электромагнитное излучение крайне высокой частоты; ОТ — озонотерапия; КВЧ+ОТ — сочетание КВЧ-терапии и озонотерапии.

Fig. 8. Mean values of superoxide dismutase catalytic activity in the erythrocytes of rats from the studied groups at various observation periods

Note: the figure was created by the authors. Abbreviations: КВЧ — electromagnetic radiation in the high-frequency range; ОТ — ozone therapy; КВЧ+ОТ — combination of UHF and ozone therapy.

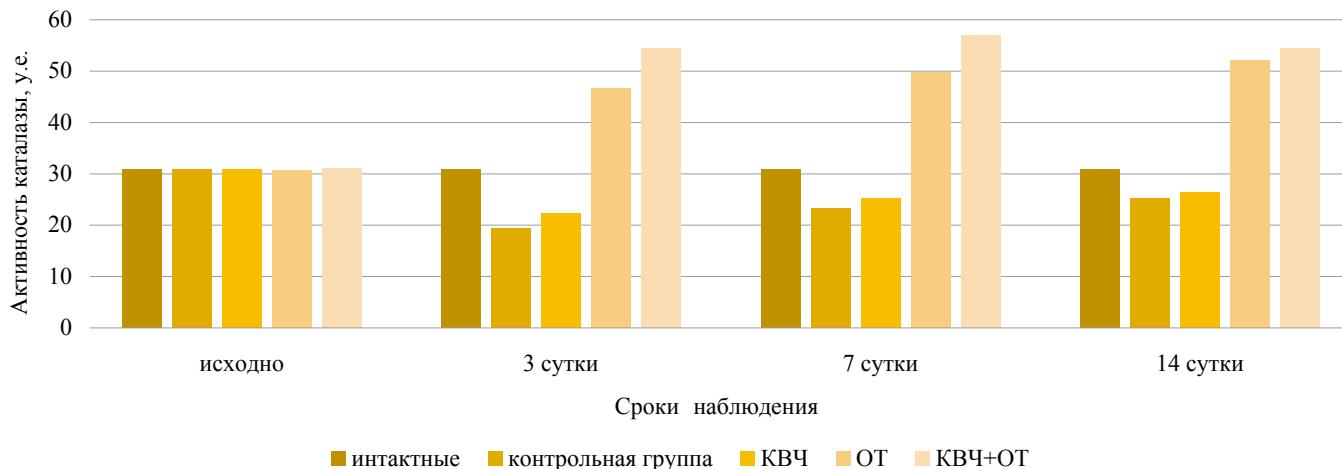


Рис. 9. Средние значения активности каталазы в эритроцитах крыс исследуемых групп при различных сроках наблюдения

Примечание: рисунок выполнен авторами. Сокращения: КВЧ — электромагнитное излучение крайне высокой частоты; ОТ — озонотерапия; КВЧ+ОТ — сочетание КВЧ-терапии и озонотерапии.

Fig. 9. Mean catalase activity values in the erythrocytes of rats from the studied groups at various observation periods

Note: the figure was created by the authors. Abbreviations: КВЧ — electromagnetic radiation in the high-frequency range; ОТ — ozone therapy; КВЧ+ОТ — combination of UHF and ozone therapy.

из них даже к этому сроку не выявлено полной нормализации — параметр остается статистически значимо ниже характерного для здоровых животных ($p < 0,05$ для супероксиддисмутазы и каталазы). Это может быть обусловлено большим объемом свободных радикалов, синтезируемых в рамках реализации окислительного стресса и утилизируемых данными ферментами. Интересно, что проведение курса обработки приживающих кожных лоскутов электромагнитным КВЧ-излучением в форме монотерапии лишь умеренно повышает каталитические свойства энзимов. С другой стороны, внутрибрюшинное введение озонированного физиологического раствора как в изолированном варианте, так и в особенности при сочетании с локальной КВЧ-обработкой регенерирующей поверхности эффективно повышает ферментативные свойства обоих энзимов, обеспечивая их активность выше уровня интактных животных. Этот фактор имеет принципиальное значение прежде всего в ранний посттравматический период, причем в большей степени происходит стимуляция энзиматической активности каталазы. Так, при комбинированной схеме экспериментальной терапии на 3-и сутки наблюдения фиксировали повышение активности супероксиддисмутазы в 1,36 раза, а каталазы — в 1,75 раза относительно здоровых крыс ($p < 0,05$ для обоих ферментов). Подобная тенденция сохранялась на протяжении всего периода эксперимента, что и позволило существенно повысить антиоксидантный потенциал как эритроцитов, так и плазмы крови именно за счет ферментного звена антиоксидантной системы биологической жидкости животных.

ОБСУЖДЕНИЕ

Интерпретация/научная значимость

Проведенные нами исследования позволили установить, что моделирование обширного кожного дефекта сопровождается выраженным сдвигами окислительного

метаболизма в плазме крови и эритроцитах животных. При этом в отсутствие патогенетического лечения формируются признаки окислительного стресса, включающие интенсификацию свободнорадикальных процессов и угнетение общей антиоксидантной активности в сочетании с накоплением повышенного количества продуктов липопероксидации (в частности, малонового диальдегида). Проведение экспериментальной терапии введением озона либо обработкой электромагнитным излучением КВЧ-диапазона позволяет частично компенсировать указанные метаболические нарушения, однако оптимальным вариантом является сочетание данных факторов в рамках единой схемы, что и иллюстрирует рисунок 10.

Ограничения исследования

В рамках проведенного исследования нами проводилась оценка саногенетических эффектов только одного режима КВЧ-воздействия и озонотерапии. Данные режимы подбирались нами на основании предшествующих исследований, однако они были адаптированы для других моделей раневых процессов (в частности, модели ожоговой раны). Для использованных режимов ранее были показаны положительные функциональные и метаболические эффекты, но специфичность морфоструктурных сдвигов состояния тканей, возникающих при формировании ишемизированного кожного лоскута, может потребовать корректировки режимов обработки биологического объекта. Кроме того, при последующей трансляции этих технологий в клиническую медицину также будет необходима оценка оптимальности режима воздействия.

Обобщаемость/экстраполяция

Концептуальной задачей данного экспериментально-го исследования служило выяснение целесообразности дополнения КВЧ-терапии в стимуляции регенеративных процессов лечебным фактором, оказывающим организ-

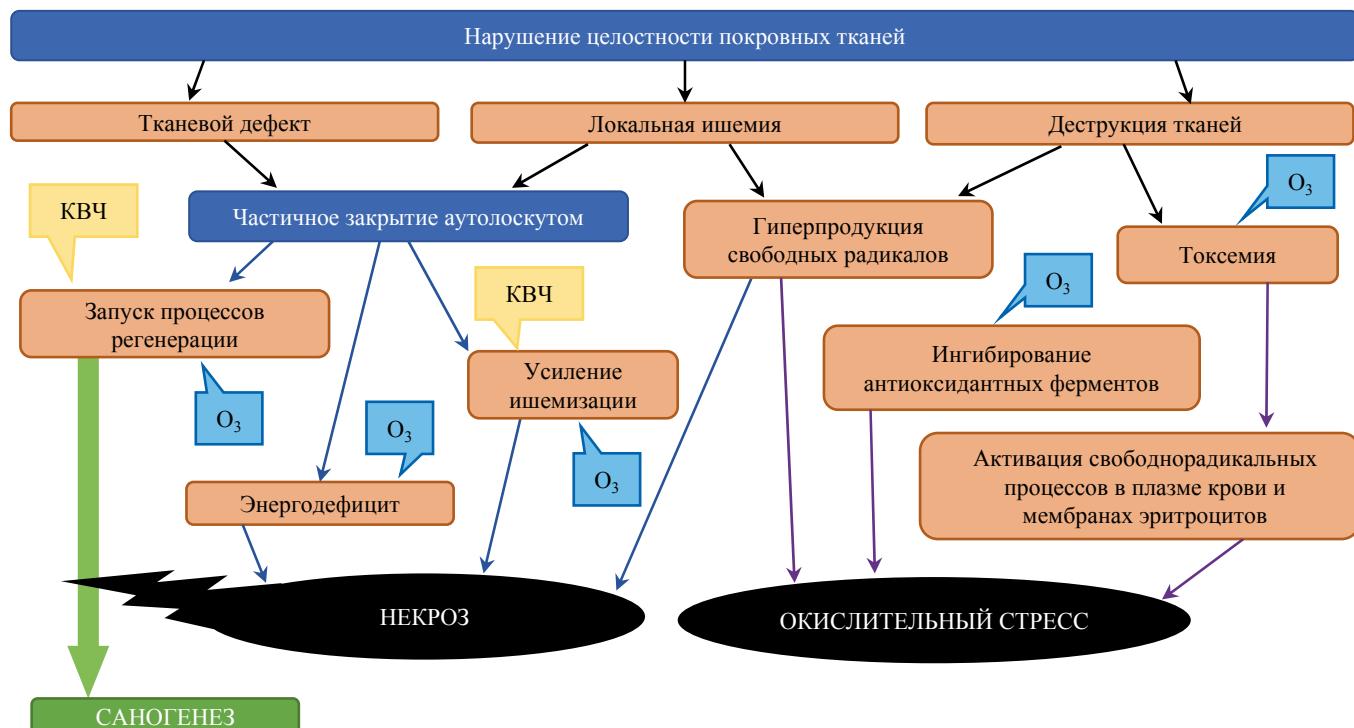


Рис. 10. Саногенетическая роль КВЧ-терапии и озонотерапии в стимуляции регенеративных процессов

Примечание: рисунок выполнен авторами. Сокращение: КВЧ — электромагнитное излучение крайне высокой частоты.

Fig. 10. Sanogenetic role of ultrahigh frequency therapy and ozone therapy in the stimulation of regenerative processes

Note: the figure was created by the authors. Abbreviation: КВЧ — electromagnetic radiation in the electromagnetic radiation in the high-frequency range

менное влияние на окислительный метаболизм крови — внутрибрюшинной озонотерапией [30, 31]. Обнаруженное ранее [25, 27, 29] и подтвержденное в рамках настоящей работы угнетение активности антиоксидантной системы крови обосновывает необходимость данной комплексной лечебной схемы, что и было подтверждено результатами проведенного эксперимента. Это позволяет говорить о принципиальной значимости сочетания «локальная КВЧ-терапия + системная озонотерапия» в качестве поддерживающего лечения при приживлении кожных лоскутов, однако для осуществления трансляции технологии в клиническую практику необходимо продолжение исследований в данном направлении. Кроме того, нами предполагается целесообразность индивидуализации режимов воздействия рассматриваемых физических факторов вследствие гетерогенности состояния кожных покровов у различных пациентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, продемонстрировано, что положительное действие изучаемых лечебных факторов проявляется на системном уровне, о чем свидетельствует оптимизация биохимических параметров и индикаторов окислительного метаболизма плазмы крови животных. Установлено, что электромагнитное излучение крайне высоких частот в режиме шума оказывает регуляторное влияние на состояние про- и антиоксидантных систем организма на модели пересаженного кожного лоскута, обеспечивая снижение выраженности окислительного стресса и повышение антиоксидантных резервов крови. Данный эффект усиливается

при дополнительном применении озонотерапии. Следует отметить, что полученные результаты имеют важное практическое значение для создания инновационных технологий комплексной медицинской реабилитации больных ортопедо-травматологического профиля как инструмент воздействия на репаративные процессы в очаге поражения для восстановления и поддержания тканевых структур.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

- Mason SA, Nathens AB, Byrne JP, Fowler R, Gonzalez A, Karanicolas PJ, Moineddin R, Jeschke MG. The accuracy of burn diagnosis codes in health administrative data: A validation study. *Burns*. 2017;43(2):258–264. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2016.11.008>
- Mason SA, Nathens AB, Byrne JP, Gonzalez A, Fowler R, Karanicolas PJ, Moineddin R, Jeschke MG. Trends in the epidemiology of major burn injury among hospitalized patients: A population-based analysis. *J Trauma Acute Care Surg*. 2017;83(5):867–874. <https://doi.org/10.1097/TA.0000000000001586>
- Martens S, Romanowski K, Palmieri T, Greenhalgh D, Sen S. Massive Pediatric Burn Injury: A 10-Year Review. *J Burn Care Res*. 2023;44(3):670–674. <https://doi.org/10.1093/jbcr/irab201>
- Alali AS, Burton K, Fowler RA, Naimark DM, Scales DC, Mainprize TG, Nathens AB. Economic Evaluations in the Diagnosis and Management of Traumatic Brain Injury: A Systematic Review and Analysis of Quality. *Value Health*. 2015;18(5):721–734. <https://doi.org/10.1016/j.jval.2015.04.012>
- Foppiani JA, Weidman A, Hernandez Alvarez A, Valentine L, Bustos VP, Galinaud C, Hrdina R, Hrdina R Jr, Musil Z, Lee BT, Lin SJ. A Meta-Analysis of the Mortality and the Prevalence of Burn Complications in Western Populations. *J Burn Care Res*. 2024;45(4):932–944. <https://doi.org/10.1093/jbcr/irae064>
- Шаробаро В.И., Мороз В.Ю., Юденич А.А., Ваганова Н.А., Гречишников М.И., Ваганов Н.В., Романец О.П. Алгоритм хирургического лечения больных с последствиями ожоговой травмы. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. 2015;3:65–70. <https://doi.org/10.17116/hirurgia2015365-70>

- Sharobaro VI, Moroz VYu, Yudenich AA, Vaganova NA, Grechishnikov MI, Vaganov NV, Romanets OP. Algorithm of surgical treatment of patients with consequences of burn injury. *Pirogov Russian Journal of Surgery*. 2015;3:65–70 (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/hirurgia2015365-70>
7. Фисталь Э.Я., Солошенко В.В. Диагностика нарушенной микротиркуляции при пересадке сложных лоскутов у пострадавших в результате взрывной травмы. *Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях*. 2016;3:73–78. <https://doi.org/10.25016/2541-7487-2016-0-3-73-78>
8. Шаймонов А.Х., Ходжамурадов Г.М., Исмоилов М.М., Saidov M.C. Хирургическое лечение послеожоговых рубцов шеи и груди. *Вестник Авиценны*. 2017;19(3):369–372. <http://dx.doi.org/10.25005/2074-0581-2017-19-3-369-372>
- Shaymonov AH, Khodzhamuradov GM, Ismoilov MM, Saidov M.S. Surgical treatment of post-burn scars of neck and chest. *Avicenna Bulletin*. 2017;19(3):369–372 (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.25005/2074-0581-2017-19-3-369-372>
9. Zhang Q. [Advances in the research of rheological behavior of platelets and its regulation after burn]. *Zhonghua Shao Shang Za Zhi*. 2014;30(1):56–60. Chinese.
10. Meier TO, Guggenheim M, Vetter ST, Husmann M, Haile SR, Amann-Vesti BR. Microvascular regeneration in meshed skin transplants after severe burns. *Burns*. 2011;37(6):1010–1014. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2011.01.001>
11. Athanasielis ED, Fyllos A, Zibis AH, Karachalios T, Hantes M, Dailiana Z, Malizos K, Varitimidis S. A Single-Center Surgical Experience With the Reverse Sural Artery Flap as a Reliable Solution for Lower Leg Soft Tissue Defects, With Minimum Two-Year Follow-Up. *Cureus*. 2021;13(7):e16574. <https://doi.org/10.7759/cureus.16574>
12. Wolff KD, Ritschl LM, von Bomhard A, Braun C, Wolff C, Fichter AM. In vivo perfusion of free skin flaps using extracorporeal membrane oxygenation. *J Craniomaxillofac Surg*. 2020;48(1):90–97. <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2019.12.005>
13. Medved F, Medesan R, Rothenberger JM, Schaller HE, Schoeller T, Manoli T, Weitgasser L, Naumann A, Weitgasser L. Analysis of the microcirculation after soft tissue reconstruction of the outer ear with burns in patients with severe burn injuries. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2016;69(7):988–993. <https://doi.org/10.1016/j.bjps.2016.02.010>
14. Lu R, Xiao Z, Li Z, Guo X. Modified V-Y Myocutaneous Flap With Vascular Pedicle for the Repair of Maxillofacial Skin Defects. *J Craniofac Surg*. 2020 Nov/Dec;31(8):e786–e789. <https://doi.org/10.1097/SCS.00000000000006745>
15. Zhang X, Ding P, Wang G, Chen Y, Yang X, Zhao Z, Bi H. Clinical significance of the secondary pedicle amputation of the repair of distal defects with pedicled axial flap. *Int Wound J*. 2022;19(5):1009–1015. <https://doi.org/10.1111/iwj.13697>
16. Подойницина М.Г., Цепелев В.Л., Степанов А.В. Клиническая эффективность магнитоплазменной терапии ожогов кожи. *Забайкальский медицинский вестник*. 2015;2:99–102.
- Podoynitsyna MG, Tsepelev VL, Stepanov AV. Clinical efficacy of magnetoplasmid therapy deep burns of the skin. *Zabaykal'skiy Medicinskiy Vestnik*. 2015;2:99–102 (In Russ.)
17. Масляков В.В., Сидельников С.А., Савченко А.В., Белов А.Ю., Караплов С.В., Бурекешев А.Е. Значение адекватного обезболивания для снижения осложнений при термических ожогах на догоспитальном этапе. *Скорая медицинская помощь*. 2022;23(3):37–42. <https://doi.org/10.24884/2072-6716-2022-23-3-37-42>
- Maslyakov VV, Sidel'nikov SA, Savchenko AV, Belov AYU, Kapralov SV, Burekeshev AE. The importance of adequate pain relief to reduce complications of thermal burns at the prehospital stage. *Emergency Medical Care*. 2022;23(3):37–42 (In Russ.). <https://doi.org/10.24884/2072-6716-2022-23-3-37-42>
18. Klarik Z, Tamas R, Toth E, Kiss F, Kovacs EL, Jäckel M, Furka I, Nemeth N. Intra and postoperative evaluations of microcirculation and micro-rheological parameters in a rat model of musculocutaneous flap ischemia-reperfusion. *Acta Cir Bras*. 2015;30(8):551–560. <https://doi.org/10.1590/S0102-865020150080000006>
19. Crandall CG, Davis SL. Cutaneous vascular and sudomotor responses in human skin grafts. *J Appl Physiol* (1985). 2010;109(5):1524–1530. <https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00466.2010>
20. Türker T, Hines E, Haddad D. Hemodynamics in Distally Based Sural Flaps for Lower Leg Reconstruction: A Literature Review. *J Hand Microsurg*. 2022;15(4):253–257. <https://doi.org/10.1055/s-0042-1749445>
21. Kneser U, Beier JP, Schmitz M, Arkudas A, Dragu A, Schmidt VJ, Kremer T, Horch RE. Zonal perfusion patterns in pedicled free-style perforator flaps. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2014;67(1):e9–17. <https://doi.org/10.1016/j.bjps.2013.09.006>
22. Жаворонок И.П., Молчанова А.Ю., Улащик В.С. Влияние электромагнитного излучения крайне высоких частот и низкоинтенсивного лазерного излучения на температуру и основной обмен у крыс при системном воспалении. *Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры*. 2012;89(4):44–49.
- Zhavoronok IP, Molchanova Alu, Ulashchik VS. The influence of ultrahigh-frequency electromagnetic radiation and low-intensity laser radiation on the body core temperature and basal metabolism in rats with systemic inflammation. *Problems of Balneology, Physiotherapy and Exercise Therapy*. 2012;89(4):44–49 (In Russ.).
23. Romanenko S, Begley R, Harvey AR, Hool L, Wallace VP. The interaction between electromagnetic fields at megahertz, gigahertz and terahertz frequencies with cells, tissues and organisms: risks and potential. *J R Soc Interface*. 2017;14(137):20170585. <https://doi.org/10.1098/rsif.2017.0585>
24. Ирьянов Ю.М., Борзунов Д.Ю., Дюрягина О.В. Возмещение полостного дефекта кости в условиях имплантации сетчатых конструкций из никелида титана. *Новости хирургии*. 2017;25(2):115–123. <https://doi.org/10.18484/2305-0047.2017.2.115>
- Iryanova YM, Borzunov DY, Dyuryagina OV. Compensation of Cavitary Bone Defects under Implantation of Titanium Nickelide Mesh Constructions. *Novosti Khirurgii*. 2017;25(2):115–123 (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.18484/2305-0047.2017.2.115>
25. Polyakova AG, Soloveva AG, Sazonova IE, Zakharova DV. The influence of electromagnetic radiation of extremely high frequencies on the pro- and antioxidant status of blood in experiment. *Biophysics*. 2016;61(1):109–114. <https://doi.org/10.1134/S0006350916010218>
26. Pasi F, Sanna S, Paolini A, Alquati M, Lascialfari A, Corti ME, Liberto RD, Cialdai F, Monici M, Nano R. Effects of extremely low-frequency magnetotherapy on proliferation of human dermal fibroblasts. *Electromagn Biol Med*. 2016;35(4):343–52. <https://doi.org/10.3109/15368378.2016.1138123>
27. Соловьева А.Г., Захарова Д.В. Оценка системы липопероксидации при воздействии электромагнитного излучения крайне высоких частот в условиях экспериментальной ишемии. *Лазерная медицина*. 2016;20(3):100. <https://doi.org/10.37895/2071-8004-2016-20-3-100-100>
- Solov'yova AG, Zakharova DV. Assessment of the lipoperoxidation system under electromagnetic radiation of the extremely high frequencies in experimental ischemia. *Laser Medicine*. 2016;20(3):100 (In Russ.). <https://doi.org/10.37895/2071-8004-2016-20-3-100-100>
28. Louhimies S. Directive 86/609/EEC on the protection of animals used for experimental and other scientific purposes. *Altern Lab Anim*. 2002;30Suppl2:217–219. <https://doi.org/10.1177/026119290203002S36>
29. Мартусевич А.К., Сазонова И.Е., Дilenyan LR, Kononets VV, Ivanova EG, Korepanov SK. Влияние низкоинтенсивного электромагнитного излучения КВЧ-диапазона и озонотерапии на состояние тканевого кровотока в кожном лоскуте. *International Journal of Medicine and Psychology*. 2024;7(3):102–109. <https://doi.org/10.58224/2658-3313-2024-7-3-102-109>
- Martusevich AK, Sazonova IE, Dilenyan LR, Kononets VV, Ivanova EG, Korepanov SK. The effect of low-intensity electromagnetic radiation of the EHF band on the state of tissue blood flow in the skin flap. *International Journal of Medicine and Psychology*. 2024;7(3):102–109 (In Russ.). <https://doi.org/10.58224/2658-3313-2024-7-3-102-109>
30. Güner MH, Görgülü T, Olgun A, Torun M, Kargi E. Effects of ozone gas on skin flaps viability in rats: an experimental study. *J Plast Surg Hand Surg*. 2016;50(5):291–297. <https://doi.org/10.3109/2000656X.2016.1170024>
31. Krkl C, Yiğit MV, Özercan İH, Aygen E, Gültürk B, Artaş G. The Effect of Ozonated Olive Oil on Neovascularization in an Experimental Skin Flap Model. *Adv Skin Wound Care*. 2016;29(7):322–327. <https://doi.org/10.1097/01.ASW.0000484172.04260.46>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Мартусевич Андрей Кимович — доктор биологических наук, доцент, руководитель лаборатории медицинской биофизики Университетской клиники федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; профессор кафедры физиологии и биохимии животных и акушерства федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Нижегородский государственный агротехнологический университет».

<https://orcid.org/0000-0002-0818-5316>

Сазонова Ирина Евгеньевна — ассистент кафедры патологической физиологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

<https://orcid.org/0009-0009-7489-5904>

Соловьева Анна Геннадьевна — доктор биологических наук, профессор кафедры биохимии и биотехнологии федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский НИИ

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Andrew K. Martusevich — Dr. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Head of the Medical Biophysics Laboratory, University Clinic, Privolzhsky Research Medical University; Prof., Department of Animals Physiology, Biochemistry and Obstetrics, Nizhny Novgorod State Agrotechnological University

<https://orcid.org/0000-0002-0818-5316>

Irina E. Sazonova — Assistant, Pathological Physiology Department, Privolzhsky Research Medical University.

<https://orcid.org/0009-0009-7489-5904>

Anna G. Soloveva — Dr. Sci. (Biology), Prof., Department of Biochemistry and Biotechnology, Lobachevsky National Research State University of Nizhny Novgorod.

<https://orcid.org/0000-0001-6890-4530>

жегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского».

<https://orcid.org/0000-0001-6890-4530>

Орлинская Наталья Юрьевна — доктор медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой патологической анатомии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

<https://orcid.org/0000-0003-2896-2968>

Кононец Владимир Владимирович — заведующий кафедрой физического воспитания федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Нижегородский государственный технический университет им. Р.Е. Алексеева».

<https://orcid.org/0009-0002-6147-9070>

Диленян Левон Робертович — кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической физиологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

<https://orcid.org/0000-0001-7214-0959>

Natalia Yu. Orlinskaya — Dr. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Head of the Pathological Anatomy Department, Privolzhsky Research Medical University.

<https://orcid.org/0000-0003-2896-2968>

Vladimir V. Kononets — Head of the Physical Education Department, Nizhny Novgorod State Technical University named after R.E. Alekseev.

<https://orcid.org/0009-0002-6147-9070>

Levon R. Dilenyan — Cand. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Head of the Department of Pathological Physiology, Privolzhsky Research Medical University.

<https://orcid.org/0000-0001-7214-0959>

✉ Автор, ответственный за переписку / Corresponding author