



© 2023 Коллектив авторов, 2023

УДК 612.127.2-008.64 + 616-092.19] : 612.123-056.5-092.4

DOI: 10.24884/1607-4181-2022-30-4-18-31

Н. Б. Мельникова<sup>1</sup>, Д. С. Малыгина<sup>2\*</sup>, П. В. Ястребов<sup>3</sup>, И. В. Спицкая<sup>2</sup>, А. Г. Соловьева<sup>1,2</sup>,  
А. Э. Фаянс<sup>3</sup>, А. Л. Есипович<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского», г. Нижний Новгород, Россия

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Нижний Новгород, Россия

<sup>3</sup> Государственное предприятие Нижегородской области «Нижегородская областная фармация», г. Нижний Новгород, Россия

## РЕГУЛЯЦИЯ ЛИПИДНОГО МЕТАБОЛИЗМА ПОД ДЕЙСТВИЕМ 1,2,4-ТРИОКСОЛАНОВ И БЕТУЛИНА В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИИ И ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕССА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА КРЫСАХ

Поступила в редакцию 24.11.2023 г.; принята к печати 25.12.2023 г.

### Резюме

**Введение.** Нарушения липидного метаболизма, обусловленные как чрезмерными физическими и психоэмоциональными нагрузками, так и гиподинамией, являются актуальными проблемами профилактики и терапии ряда заболеваний.

**Цель.** В работе изучено влияние 1,2,4-триоксоланов и бетулина в рыбьем жире на липидный и энергетический метаболизм в эксперименте на крысах на модели гипоксии и иммобилизационного стресса (ИС).

**Методы и материалы.** Исследования проводили на 75 крысах-самцах линии Wistar: интактные и экспериментальные животные на модели гипоксии и иммобилизационного стресса в течение 10 дней. Лечение проводили композицией состава бетулин (0,1 %), 1,2,4-триоксоланы (10 %) в рыбьем жире.

**Результаты.** При стрессе вне зависимости от его вида в группах без лечения происходит значительное нарушение липидного метаболизма, что отражается в показателях: ОХС повышается на 5–8 %, ТГ возрастают в 5 раз, ЛПВП возрастают на 10 %, ЛПОНП и ЛПНП возрастают – в 6 раз. Выявлено, что композиция рыбьего жира, бетулина и 1,2,4-триоксоланов, предварительно полученных озонированием липидов, оказывает нормализующее действие на большинство показателей липидного и энергетического обмена при гипоксии и ИС у крыс.

**Заключение.** 1,2,4-триоксоланы с бетулином в рыбьем жире могут быть полезны для групп населения с гиподинамией (студентов, офисных работников, пожилых людей, инвалидов), а также для спортсменов с чрезмерными физическими нагрузками.

**Ключевые слова:** гипоксия, иммобилизационный стресс, рыбий жир, 1,2,4-триоксоланы, бетулин, холестерин, триглицериды

**Для цитирования:** Мельникова Н. Б., Малыгина Д. С., Ястребов П. В., Спицкая И. В., Соловьева А. Г., Фаянс А. Э., Есипович А. Л. Регуляция липидного метаболизма под действием 1,2,4-триоксоланов и бетулина в условиях гипоксии и иммобилизационного стресса в эксперименте на крысах. *Ученые записки ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова*. 2023; 30(4):18–31. DOI: 10.24884/1607-4181-2023-30-4-18-31.

\* Автор для связи: Дарина Сергеевна Малыгина, ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России, 603000, Россия, г. Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, д. 10/1. E-mail: [mds73@yandex.ru](mailto:mds73@yandex.ru).

Nina B. Melnikova<sup>1</sup>, Darina S. Malygina<sup>2\*</sup>, Pavel V. Yastrebov<sup>3</sup>, Irina V. Spitskaya<sup>2</sup>, Anna G. Soloveva<sup>1,2</sup>, Anna E. Fayans<sup>3</sup>, Anton L. Esipovich<sup>1</sup>

<sup>1</sup> National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod, Russia

<sup>2</sup> Privolzhsky Research Medical University, Nizhny Novgorod, Russia

<sup>3</sup> Pharmacy of the Nizhny Novgorod region, Nizhny Novgorod, Russia

## REGULATION OF LIPID METABOLISM BY 1,2,4-TRIOXOLANES AND BETULIN UNDER HYPOXIA AND IMMOBILIZATION STRESS IN RATS

Received 24.11.2023; accepted 25.12.2023

### Summary

**Introduction.** Lipid metabolism disorders, caused by both excessive physical and psycho-emotional stress, and physical hypoxia, are important problems in the prevention and treatment of a number of diseases.

**The objective** was to study the effect of 1,2,4-trioxolanes and betulin in fish oil on lipid and energy metabolism in an experiment on rats under hypoxia and immobilization stress (IS).

**Methods and materials.** The studies were carried out using 75 male Wistar rats (intact and experimental animals) on a model of hypoxia and immobilization stress for 10 days. The treatment was carried out with the composition of betulin (0.1 %), 1,2,4-trioxolanes (10 %) in fish oil.

**Results.** Under stress, regardless the type of stress, in groups without treatment, there was a significant disturbance in lipid metabolism, which was reflected in the following indicators: total cholesterol increases by 5–8 %, TG increase by 5 times, HDL increase by 10 %, VLDL and LDL increase by ~ 6 times. It was revealed that the composition of fish oil, betulin and 1,2,4-trioxolanes, previously obtained by ozonation of lipids, had a normalizing effect on the indexes of lipid and energy metabolism under hypoxia and IS in rats.

**Conclusions.** 1,2,4-trioxolanes with betulin in fish oil may be useful for population groups with physical inactivity (students, office workers, elderly people, disabled people), as well as for athletes with excessive physical activity.

**Keywords:** hypoxia, immobilization stress, fish oil, 1,2,4-trioxolanes, betulin, cholesterol, triglycerides

**For citation:** Melnikova N. B., Malygina D. S., Yastrebov P. V., Spitskaya I. V., Soloveva A. G., Fayans A. E., Esipovich A. L. Regulation of Lipid Metabolism by 1,2,4-Trioxolanes and Betulin under Hypoxia and Immobilization Stress in Rats. *The Scientific Notes of Pavlov University*. 2023;30(4):18–31. (In Russ.). DOI: 10.24884/1607-4181-2023-30-4-18-31.

\* **Corresponding author:** Darina S. Malygina, Privolzhsky Research Medical University, 10/1, Minina and Pozharsky sq., Nizhny Novgorod, 603000, Russia. E-mail: mds73@yandex.ru.

### ВВЕДЕНИЕ

Современная жизнь человека, связанная с психологическими нагрузками и снижением двигательной активности и уровня кислорода в организме, приводит к оксидативному стрессу (ОС) и к нарушениям липидного метаболизма. В свою очередь, ОС является причиной многих заболеваний (например, атеросклероз, рак, сердечно-сосудистые заболевания, неврологические заболевания, бесплодие, заболевания почек, диабет и ожирение и др.) [1–7]. Лечение заболеваний, связанных с ОС, предусматривает терапию, нормализующую баланс и дисбаланс эндогенных и экзогенных антиоксидантов и оксидантов. К последним относятся перекись водорода, синглетный молекулярный кислород и 1,2,4-триоксоланы, которые действуют как вторичные мессенджеры в физиологической окислительно-восстановительной передаче сигналов [1, 8]. В практической медицине наибольшее применение нашли первичные и вторичные триоксоланы, получаемые озонированием растительных масел, содержащих ненасыщенные жирные кислоты (рис. 1). Триоксоланы — это соединения с фрагментом пятичленного кольца, содержащим три атома кислорода.

1,2,4-триоксоланы проявляют различные виды биологической активности: антибактериальную,

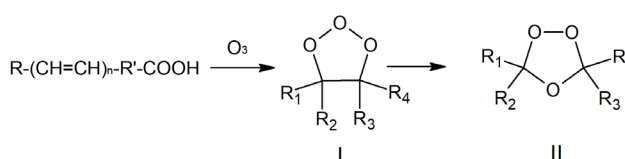


Рис. 1. Схема озонирования масел, содержащих ненасыщенные жирные кислоты (I — первичные 1,2,3-триоксоланы, II — вторичные 1,2,4-триоксоланы)

Fig. 1. Scheme of ozonation of oils containing unsaturated fatty acids (I — primary 1,2,3-trioxolanes, II — secondary 1,2,4-trioxolanes)

противогрибковую, противопаразитарную, противолейшманиозную, противомаларийную. Они способствуют повышению адаптационных возможностей организма к экстремальным стрессовым условиям, могут быть использованы при лечении злокачественных новообразований, ожогов, а также заболеваний, связанных с поражением иммунной системы (ВИЧ, ревматоидный артрит и др.) [9–16]. Действие триоксоланов осуществляется за счет метаболической стимуляции процессов энергообразования в организме при патологиях органов дыхания, сердечно-сосудистой системы, органов ЖКТ [17] и при лечении заболеваний опорно-двигательного аппарата [18].

Комбинация 1,2,4-триоксоланов и рыбьего жира, имеющего высокое содержание ω-3-ненасы-

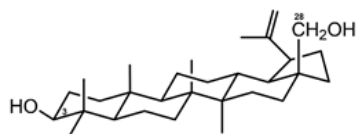


Рис. 2. Структурная формула бетулина  
Fig. 2. Chemical structure of betulin

ценных жирных кислот, таких как эйкозапентаеновая кислота (ЭПК) и докозагексаеновая кислота (ДГК), может проявлять синергетические эффекты ценных свойств ЭПК и ДГК (нейропротекторное, антиоксидантное, противовоспалительное, гиполипидемическое и др.) и триоксоланов [19–21]. Стабилизатором — антиоксидантом в липидной среде, предотвращающим окисление ЭПК и ДГК рыбьего жира, может выступать пищевой антиоксидант, например, тритерпеноид из бересты березы — бетулин [22]. Кроме того, антиоксидант бетулин проявляет гиполипидемическое действие [23–25] (рис. 2).

В настоящей работе нами исследовано влияние 1,2,4-триоксоланов и бетулина в рыбьем жире на липидный и энергетический метаболизм в эксперименте на крысах на модели гипоксии и иммобилизационного стресса (ИС).

Нами изучены: 1) динамика параметров липидного спектра крови — сывороточной концентрации триглицеридов, общего холестерина, холестерина липопротеинов низкой и высокой плотности, величины прогностического коэффициента атерогенности (КА) в ответ на применение препаратов рыбьего жира; 2) активность лактатдегидрогеназы в прямой и обратной реакции и баланс НАД/НАДН для характеристики энергетического метаболизма после курсового использования соединений бетулина, 1,2,4-триоксоланов в рыбьем жире; 3) роль метаболитов и маркеров железа (ферритин, трансферрин), количество гемоглобина в эритроцитарной массе в процессах «дыхания» при иммобилизационном стрессе при курсовом использовании соединений бетулина, 1,2,4-триоксоланов в рыбьем жире и в отсутствии лечения.

## МЕТОДЫ И МАТЕРИАЛЫ

Рыбий жир MEG-3 1812 TG Oil, Серия №: PC00004320, Перу. Вода деионизованная (ФС 42-0324-09), удельное сопротивление менее 0,2 мкСм с pH 5,5 при температуре  $20 \pm 10^\circ\text{C}$ .

Бетулин ( $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_2$ ), чистота 99,5 % (ВЭЖХ), был получен из Sigma-Aldrich (CAS 473-98-3) для контроля качества; бетулин березовый, чистота  $\geq 90,0$  % (экстракт бересты, ТУ 9154-002-78885301-14, фирма «Древит», г. Пермь, Россия) был использован для получения композиций.

1,2,4-триоксоланы получали путем озонирования кунжутного масла или рыбьего жира, используя концентратор кислорода марки «HG5» (Shenyang Santa Medical TECH. Co., Ltd, Китай) в режиме 5 л/мин, 220 В, 50 Гц, и генератор озона

УОТА-60-01 (ООО «Медозон», Москва, Россия). Диапазон значений концентрации озона в кислородно-озоновой смеси на выходе установки составлял от 0 до 80 мг/л, расход кислородно-озоновой смеси составлял 0–1,0 л/мин. Полученные 1,2,4-триоксоланы имели характеристики: кинематическая вязкость 3454–5044 мм<sup>2</sup>/с; кислотное число 7,5–15,9 мг KOH/г; йодное число 20,5–22,0 мг йода/100 г; озонидное число 6690–7101 мэкв  $\text{O}_2$ /кг. В ИК-спектрах (ИК-Фурье-спектрометр IR Prestige-21 (Shimadzu, Киото, Япония), таблетки KBr) озонированных образцов наблюдалась полоса 1105 см<sup>-1</sup> ( $\nu$  триоксоланов). По результатам масс-спектрометрии в озонированных образцах рыбьего жира практически полностью отсутствовали ЭПК и ДГК. <sup>1</sup>H-ЯМР спектр (спектрометр Jeol JNM ECX-400 (Jeol Ltd., Токио, Япония), частота 100 и 400 МГц),  $\delta$ , м.д. [26, 27]: 0.87 м, 1.24 ш, 1.60 ш, 2.30 два триплета ( $\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_2$  и  $\text{CH}_2 - \text{CH}_3$ ); 5.12, 5.13, 5.1 м (CH в триоксолановом цикле); 4.14 дд, 4.28 дд, 5.16, 5.18, 5.19 м (CH в триглицеридном фрагменте). <sup>13</sup>C-ЯМР спектр,  $\delta$ , м.д.: 7.86, 8.11, 14.16, 14.25, 22.77, 22.82, 29.15, 29.20, 29.24, 29.40, 29.49, 29.58, 29.61, 29.78, 29.83, 32.05, 24.99, 30.86, 34.18, 25.03, 62.23, 103.39, 104.29, 104.34, 104.39, 104.47, 69.00.

Жирнокислотный состав исследуемых образцов устанавливали с помощью ГХ-МС (Shimadzu GC-2010, оснащенный масс-спектрометром GCMS-QP2020, ПИД и капиллярной колонкой VB-1701, длина колонки 30 м, внутренний диаметр 0,32 мм и толщина пленки 0,5 мкм; VICI, Poulso, Вашингтон, США), газ-носитель — гелий. Температура инжектора и детектора составляла 250 °С, температура печи программировалась от 100 °С (выдержка 5 мин) до 250 °С (выдержка 50 мин) со скоростью 10 °С/мин. Долю 1,2,4-триоксоланов рассчитывали методом гелипроникающей хроматографии с использованием жидкостного хроматографа Хромос LC-310 (Хромос, Россия) с рефрактометрическим детектором, система из двух последовательно расположенных колонок Phenomenex Phenogel 00H-0441-K0 (300×7,8 мм, Phenomenex, США), заполненных стирол-дивинилбензолом (размер частиц 5 мкм, диаметр пор 50 Å). Предколонка Phenomenex Guards 03B-2088-K0 (размер частиц 5 мкм) использовалась для защиты колонок от примесей.

Состав предлагаемых композиций представлен в табл. 1. Для композиций использовали фракцию озонированного рыбьего жира, содержащую около 70 % 1,2,4-триоксоланов (1,2,4-Т) с перекисным числом 7000.

Исследования были проведены на 75 крысах, разделенных на 15 групп: 1, 2, 3 группы — контроль без лечения (1 — интактные животные, 2 — гипоксия, 3 — ИС); 4, 5, 6 группы — лечение бетулином (4 — интактные животные без стресса, 5 — гипоксия, 6 — ИС); 7, 8, 9 группы — лечение исходным рыбьим жиром (7 — интактные животные без стресса, 8 — гипоксия, 9 — ИС); 10, 11, 12 группы — лечение

Таблица 1

## Исследуемые композиции

Table 1

## Studied compositions

Группа	Группы животных	Композиция	Ежедневная доза
Контроль (без лечения)	1, 2, 3	—	—
Бетулин	4, 5, 6	Суспензия бетулина в воде (0,1 %)	0,002 г бетулина
РЖ	7, 8, 9	Рыбий жир	2 г рыбьего жира
1,2,4-Т	10, 11, 12	1,2,4-Т (10,0 %) в рыбьем жире	0,14 г 1,2,4-триоксоланов в 1,86 г рыбьего жира
РЖ + 1,2,4-Т + Б	13, 14, 15	Фармацевтическая композиция состояла из 1,2,4-Т (10,0 %), бетулина (0,1 %), аскорбилпальмитата (0,01 %) и неозонированного рыбьего жира (до 100 %)	0,002 г бетулина, 0,14 г 1,2,4-триоксоланов в 1,86 г рыбьего жира

Таблица 2

Масса тела крыс на 10 день эксперимента *in vivo*

Table 2

Body weight of rats on Day 10 of *in vivo* experiments

Состояние животных	Группа				
	Контроль (без лечения)	Бетулин	РЖ	1,2,4-Т	РЖ + 1,2,4-Т + Б
Интактные (без стресса)	223 [214; 232,4]	219,7 [209,2; 230,2]	221,6 [213,3; 229,9]	213,9 [203,4; 226]	215,4 [205,2; 225,6]
Гипоксия	203,6 [191,3; 215,9] <sup>1</sup>	211,2 [198,2; 224,5]	209,6 [197,6; 221,6] <sup>1</sup>	207,5 [201,3; 213,7] <sup>1</sup>	215,4 [205,2; 225,6]
ИС	205,8 [192,8; 218,8] <sup>1</sup>	209,8 [202,6; 217] <sup>1</sup>	206,4 [196,6; 217,2] <sup>1</sup>	205,7 [196,3; 215,1] <sup>1</sup>	207,2 [198,5; 216,1] <sup>1</sup>

Примечание: масса тела интактных крыс на 0 день эксперимента составляла 228,1 [220,2; 236] г.; <sup>1</sup> — различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами без лечения ( $p < 0,05$ ); ИС — иммобилизационный стресс.

1,2,4-триоксоланами в рыбьем жире (10 — интактные животные без стресса, 11 — гипоксия, 12 — ИС); 13, 14, 15 группы — лечение 1,2,4-триоксоланами с бетулином в рыбьем жире (13 — интактные животные без стресса, 14 — гипоксия, 15 — ИС).

Композиции вводили крысам ежедневно в течение 10 дней по 2 мл перорально через зонд.

Биологическую активность композиций оценивали в отделе физико-химических исследований Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России. Исследования соответствовали Хельсинской декларации (2000), «Правилам клинической практики в РФ», утвержденным Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266. Эксперименты на животных были проведены с соблюдением принципов гуманности, согласно директивам Европейского сообщества (№ 86/609/ЕЕС, Страсбург, 1986 г.). Протокол исследования на животных одобрен Локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России (протокол № 1 от 18 января 2021 г.).

Эксперименты проведены на 75 крысах-самцах линии Wistar массой 200 — 250 г в возрасте 5 — 7 месяцев. Животные содержались в стандартных условиях вивария в клетках при свободном доступе

к пище и воде на рационе питания, согласно нормативам ГОСТа «Содержание экспериментальных животных в питомниках НИИ» [28], и были разделены путем стратифицированной рандомизации по массе тела и возрасту. После 14-дневной адаптации к условиям местного вивария и карантина были сформированы 15 групп.

Животных взвешивали непосредственно перед началом эксперимента (интактная группа) и на 10-й день эксперимента (все группы, табл. 2).

Для моделирования хронического иммобилизационного стресса (ИС) применяли длительное ограничение подвижности: на протяжении 10 дней ежедневно с 9.00 до 15.00 животных помещали в камеры малого объема, ограничивающие их подвижность, без доступа к пище и воде [29]. Выводили из эксперимента на 10-е сутки под наркозом (Zoletil 100 (60 мг/кг) + XylaVET (6 мг/кг)).

При моделировании гипоксии использовали вариант острой гипоксической гипоксии, вызываемой шестичасовой экспозицией подопытных животных в вентилируемой барокамере с остаточным давлением, соответствующим подъему на высоту 8000 м. Он характеризуется большим диапазоном изменений количественных значений биохимических



показателей крови и параметров СРО тканей, что позволяет провести достаточно корректную оценку наличия и выраженности антигипоксического действия у исследуемого средства в течение 10 дней, помещая животных в барокамеру [30]. Выводили из эксперимента на 10-е сутки под наркозом (Zoletil 100 (60 мг/кг) + XylaVET (6 мг/кг)).

Для оценки уровня микрогемоциркуляции определяли показатель микроциркуляции (ПМ), отражающий средний уровень перфузии (средний поток эритроцитов) в единице объема ткани за единицу времени (перфузионные единицы), позволяющий дать интегральную оценку состояния микроциркуляции исследуемого участка ткани. ПМ определяли методом лазерной доплеровской флоуметрии [31–34] с использованием лазерного анализатора «ЛАКК-М» (НПП «Лазма», Россия). Во время исследования зонд анализатора устанавливали на исследуемую область перпендикулярно поверхности и регистрировали отраженный сигнал, из которого анализатор выделял сигнал доплеровского сдвига частоты, пропорциональный скорости движения эритроцитов. Продолжительность записи составляла 3 мин.

Показатель микроциркуляции (ПМ), отражающий средний уровень перфузии (средний поток эритроцитов), был рассчитан по формуле:

$$\text{ПМ} = K \cdot N_{\text{эп}} \cdot V_{\text{ср}},$$

где  $K$  — коэффициент лазерного анализатора «ЛАКК-М», (Вс)/м, устанавливается по стандартным исследованиям на сосудах известного диаметра (калибровка);  $N_{\text{эп}}$  — количество эритроцитов;  $V_{\text{ср}}$  — средняя скорость эритроцитов в зондируемом объеме.

Желудок был выбран в качестве объекта гистологического исследования для оценки возможности образования ожогов при лечении композициями. Доступ к желудку был осуществлен путем лапаротомии. После фиксации в 10 % забуференном формалине производилась вырезка репрезентативных сегментов тканей с дальнейшим промыванием в проточной воде, обезвоживанием с использованием этанола возрастающей концентрации (70 %, 80 %, 95 %) и изопропанола, пропитыванием и заключением в парафин и серийной резкой (5 мкм) замороженных парафиновых блоков на микротоме. При регрессивном окрашивании время инкубации в гематоксилине (Гарриса) составляло 5 или 10 мин, в дифференцирующем растворе (1 % HCl в 70 % этаноле) — 2 или 10 секунд, в 1 % водно-спиртовом эозине — 1 или 2 мин. При прогрессивном окрашивании время инкубации в гематоксилине (Карацци) и эозине было аналогичным, однако не требовалось применения дифференцирующего раствора.

Биологический анализ *in vitro* проводили с использованием крови крыс, стабилизированной цитратом натрия (1:9). Эритроциты дважды промывали 0,9 % раствором NaCl путем центрифугирования в течение 10 мин при 1600×g.

Активность АДГ определяли спектрофотометрическим методом с использованием в качестве субстрата ацетальдегида [35]. Активность ЛДГ определяли спектрофотометрическим методом в прямой и обратной реакциях (субстрат — 50 мМ лактата натрия и 23 мМ пирувата натрия соответственно) [36]. Удельную активность ферментов рассчитывали по концентрации белка, полученного спектрофотометрическим двухволновым методом количественного определения белков [37].

Концентрацию липидов сыворотки крови определяли на биохимическом анализаторе «Hitachi-2000» (Япония). Содержание общего холестерина определяли по методу [38], концентрацию триглицеридов (ТГ) сыворотки крови — по методу [39], содержание холестерина (ОХС) липопротеидов высокой плотности (ЛПВП) — методом [40], концентрацию липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) — по формуле W. T. Friedewald и соавторов:  $\text{ЛПНП} = (\text{ХС} - \text{ТГ}) / (2,2 - \text{ЛПВП})$ . Концентрацию липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП) рассчитывали с помощью формулы  $\text{ХС ЛПОНП} = \text{ТГ} / 5$  [41].

Концентрацию ферритина определяли в сыворотке крови методом иммунотурбидиметрии на анализаторе AU-480 («Beckman Coulter», США).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы Statistica 6.0 (StatSoft, Inc., США). Для проверки гипотезы о соответствии распределения полученных вариантов нормальному распределению применяли критерий Шапиро — Уилка. Поскольку распределения полученных результатов отличались от нормального, рассчитаны медиана и границы межквартильного диапазона, представляющие собой 25-й и 75-й процентиля. Данные представлены в виде Me [Q25; Q75]. Статистическая значимость различий значений двух независимых выборок определена с использованием непараметрического U-критерия Манна — Уитни, для множественного сравнения трех и более независимых выборок — с помощью непараметрического критерия Краскела — Уоллиса. Статистически значимыми считались различия между группами при значениях  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В работе изучались 1,2,4-триоксоланы, полученные в результате озонирования рыбьего жира (или кунжутного масла), структурные фрагменты которых указаны на рис. 3.

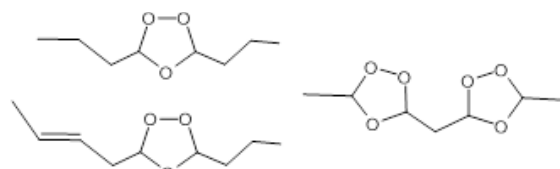


Рис. 3. Структурные фрагменты 1,2,4-триоксоланов  
Fig. 3. Structural fragments of 1,2,4-trioxolanes

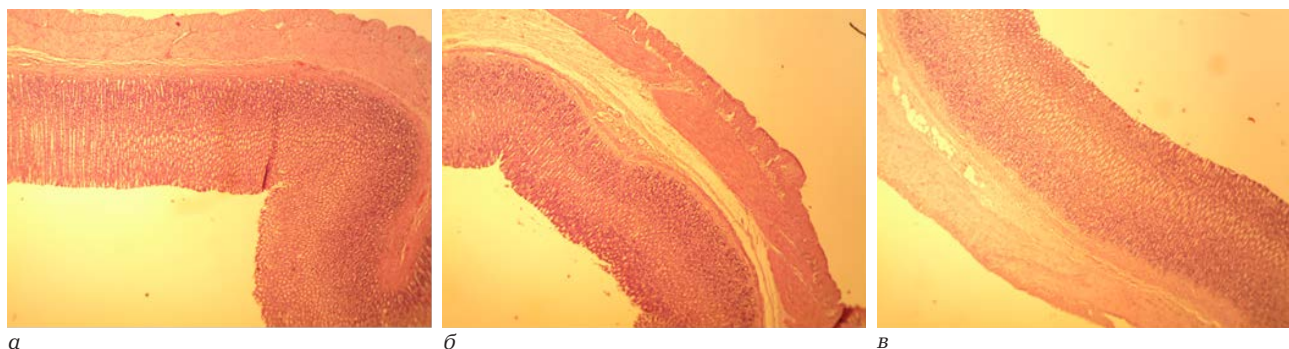


Рис. 4. Типичная гистологическая картина образцов тканей желудка: *а* – у intactных животных без приема композиции; *б* – у животных без стресса с приемом композиции в течение 10 дней; *в* – у животных под воздействием ИС с приемом композиции в течение 10 дней. Увеличение  $\times 40$

Fig. 4. Typical histological pattern of gastric tissue samples: *a* – of intact animals without treatment by the composition; *б* – of animals without stress with treatment by the composition for 10 days; *в* – of animals under IS with treatment by the composition for 10 days. 40 $\times$  magnification

Ранее нами было показано, что как химическая структура, так и биологическая активность 1,2,4-триоксоланов, полученных из кунжутного масла и рыбьего жира, близки [42]. Получение 1,2,4-триоксоланов из кунжутного масла является более экономичным, простым и экологичным (отсутствие неприятного запаха побочных продуктов озонирования рыбьего жира). Независимо от того, что источником получения 1,2,4-триоксоланов было кунжутное масло, в качестве основы исследуемой композиции всегда использовался рыбий жир (90 %). Мы использовали композицию, содержащую 10 % 1,2,4-триоксоланов с пероксидным числом 7000, 0,1 % бетулина, 0,01 % аскорбилпальмитата в рыбьем жире.

*Морфогистологическое исследование влияния композиции 1,2,4-триоксоланов с бетулином в рыбьем жире на слизистую желудка при пероральном введении.* Для оценки воздействия на слизистую желудка перорального введения композиции, которая может вызвать ожог слизистой желудка, нами проведено гистологическое исследование и оценка показателя микроциркуляции. Показано, что пероральное введение композиции в течение 10 дней intactным животным и животным с ИС не оказывает негативного влияния на структуру стенки желудка (рис. 4).

Морфологическая картина всех образцов соответствовала норме. Не изменялись серозная оболочка желудка из однослойного плоского эпителия и тонкого слоя соединительной ткани, хорошо развитая трехслойная мышечная оболочка, соединительная ткань с кровеносными сосудами подслизистой основы. Слизистая оболочка характеризовалась рельефностью эпителиального слоя, который представлен столбчатым железистым эпителием с четко выраженной полярной дифференциацией. Ядра в клетках эпителия расположены ближе к базальной мембране и при окраске гематоксилином и эозином приобретают синий цвет. Окраска гистологических образцов желудка показала, что значительную часть собственной пластинки сли-

зистой оболочки занимают собственные железы. Между начальными отделами желез видны тонкие волокна соединительной ткани, образующие поддерживающий аппарат для желез. Подслизистую оболочку составляют коллагеновые волокна, кроме того, в ней расположены единичные мышечные волокна, ориентированные параллельно поверхности органа. В толще указанной оболочки находятся кровеносные сосуды различного калибра.

Идентичность всех образцов intactных и животных со стрессом, которым вводили композицию в течение 10 дней, характеризует композицию как нетоксичную.

Ранее нами было показано, что данная композиция способна при стрессе у крыс активировать ферментную систему антиоксидантной защиты, нормализуя показатели ПОЛ (МДА, основания Шиффа, диеновые и триеновые конъюгаты) и активируя НАДФ/НАДФН и НАД/НАДН-зависимые ферменты (ГР, Г6ФДГ, ЛДГ, АлДГ), а также СОД и каталазу [42]. Активность СОД, каталазы, ГР и Г6ФДГ повышалась у intactных животных (без стресса) под действием композиции РЖ + 1,2,4-Т + Б на 29 %, 42 %, 198 % и 26 % соответственно. В то же время под действием изучаемой композиции у intactных крыс увеличивались концентрация МДА в эритроцитах, уровень ДК, ТК и оснований Шиффа на 36 %, 12 %, 16 %, 43 % соответственно.

Гипоксия и ИС сопровождалась дисбалансом НАДФ/НАДФН и НАД/НАДН-зависимых ферментов ЛДГ в прямых и обратных реакциях (табл. 4). Коэффициент активности  $\text{ЛДГ}_{\text{обр}}/\text{ЛДГ}_{\text{пр}}$  у intactных крыс составлял 4,22, а при гипоксии и ИС – 9,37 и 4,99 соответственно. Этот факт характеризует накопление лактата, что может привести к лактоацидозу (табл. 4). Активность АлДГ при гипоксии возрастала примерно на 3 % и на 22 % при ИС.

*Липидный обмен при ИС и гипоксии под действием композиции с 1,2,4-триоксоланами и бетулином в рыбьем жире.* Гипоксия и ИС приводили к снижению уровня триглицеридов (ТГ) в 5,6 и 4,8 раза соответственно по сравнению с intactной

Таблица 3

Показатель микроциркуляции (ПМ) желудка intactных крыс и крыс с гипоксией и ИС (n=5)

Table 3

Microcirculation index (MI) of the stomach of intact rats and rats with hypoxia and IS (n=5)

ПМ, перф. ед.	Состояние животных	Группа				
		Контроль (без лечения)	Бетулин	РЖ	1,2,4-Т	РЖ+1,2,4-Т+Б
Желудок	Intactные (без стресса)	19,10 [17,83; 20,37]	23,04 [21,5; 24,58] <sup>1</sup>	23,39 [21,83; 24,95] <sup>1</sup>	22,60 [21,11; 24,11] <sup>1</sup>	23,63 [21,46; 24,52] <sup>1</sup>
	Гипоксия	22,38 [21,54; 23,18] <sup>1</sup>	20,65 [19,56; 21,38] <sup>1,2</sup>	21,88 [20,76; 22,9] <sup>1</sup>	22,09 [21,12; 23,24] <sup>1</sup>	19,74 [18,85; 20,67] <sup>2</sup>
	ИС	23,71 [22,16; 25,17] <sup>1</sup>	21,87 [20,41; 23,23] <sup>1,2</sup>	21,94 [20,49; 23,33] <sup>1,2</sup>	20,26 [19,01; 21,73] <sup>2</sup>	21,42 [20,03; 22,85] <sup>1,2</sup>

Примечание: <sup>1</sup> – различия статистически значимы по сравнению с intactными крысами без лечения (p<0,05); <sup>2</sup> – различия статистически значимы по сравнению с группами «гипоксия» и «ИС» соответственно (p<0,05); ПМ – показатель микроциркуляции; РЖ – рыбий жир; 1,2,4-Т – 1,2,4-триоксоланы.

Таблица 4

Удельная активность АДГ и ЛДГ в условиях гипоксии и ИС (n=5)

Table 4

Specific activity of ALDH and LDH under hypoxia and IS (n=5)

Фермент	Состояние животных	Группа				
		Контроль (без лечения)	Бетулин	РЖ	1,2,4-Т	РЖ+1,2,4-Т+Б
АДГ, нмоль НАДН·мин <sup>-1</sup> ·мг белка <sup>-1</sup>	Intactные (без стресса)	39,57 [33,59; 46,38]	44,63 [44,21; 45,48]	52,11 [51,62; 52,51] <sup>1</sup>	41,01 [40,04; 41,73]	42,13 [41,71; 43,71]
	Гипоксия	40,86 [40,15; 47,55]	58,91 [57,99; 59,9] <sup>1,2</sup>	76,01 [75,33; 76,18] <sup>1,2</sup>	89,1 [87,74; 90,35] <sup>1,2</sup>	56,16 [53,46; 60,85] <sup>1,2</sup>
	ИС	48,25 [48,04; 48,43] <sup>1</sup>	52,77 [52,08; 52,88] <sup>1,2</sup>	46,38 [46,02; 46,69] <sup>1,2</sup>	42 [41,11; 42,9] <sup>2</sup>	41,68 [41,09; 41,97] <sup>2</sup>
ЛДГпр, нмоль НАДН·мин <sup>-1</sup> ·мг белка <sup>-1</sup>	Intactные (без стресса)	42,04 [40; 47,53]	43,72 [43,57; 44,01]	43,55 [43,01; 44]	45,54 [44,86; 48,93]	47,1 [46,87; 47,49]
	Гипоксия	18,93 [18,04; 19,38] <sup>1</sup>	25,72 [25,1; 26,99] <sup>1,2</sup>	37,94 [37,67; 38,74] <sup>1,2</sup>	32,03 [31,19; 32,54] <sup>1,2</sup>	40,18 [40,09; 41,45] <sup>2</sup>
	ИС	47,49 [47,12; 48,63] <sup>1</sup>	43,87 [43,6; 44,13]	41,34 [40,07; 41,88] <sup>2</sup>	45,32 [44,79; 45,89]	51,68 [51,34; 52,09] <sup>1,2</sup>
ЛДГобр, нмоль НАДН·мин <sup>-1</sup> ·мг белка <sup>-1</sup>	Intactные (без стресса)	177,2 [164; 189,9]	184,4 [179,9; 186,6]	354,9 [350,6; 369,2] <sup>1</sup>	376,5 [372,3; 386,8] <sup>1</sup>	356,6 [346; 360,5] <sup>1</sup>
	Гипоксия	177,5 [172,4; 179,3]	199,7 [195,2; 201,8] <sup>1,2</sup>	288,9 [287; 290,7] <sup>1,2</sup>	251,7 [251,1; 252,6] <sup>1,2</sup>	256,1 [255,3; 257] <sup>1,2</sup>
	ИС	236,6 [232,1; 245,8] <sup>1</sup>	195,8 [189,5; 200,9] <sup>1,2</sup>	185,5 [177; 186,1] <sup>2</sup>	246 [243,6; 251,2] <sup>1,2</sup>	268,1 [266,6; 274,3] <sup>1,2</sup>

Примечание: <sup>1</sup> – различия статистически значимы по сравнению с intactными крысами без лечения (p<0,05); <sup>2</sup> – различия статистически значимы по сравнению с группами «гипоксия» и «ИС» соответственно (p<0,05).

группой без лечения (табл. 5). При этом уровень общего холестерина (ОХС) в условиях гипоксии и ИС без лечения незначительно возрастал (5–8 %). В условиях стресса также наблюдалось снижение уровня переносчиков ТГ – липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП) в 5,8 раза при гипок-

сии и 4,6 раза при ИС по сравнению с intactной группой. Однако в условиях гипоксии и ИС уровень липопротеидов высокой плотности (ЛПВП) повышался на 7 % и 9 %. Значительное повышение ЛПВП, вероятно, отражает снижение активности лизосомальных ферментов при патологических со-

Таблица 5

## Данные по содержанию липидов в крови крыс (n=5)

Table 5

## Data on the lipids content in the rat blood (n=5)

Показатель	Состояние животных	Группа				
		Контроль (без лечения)	Бетулин	РЖ	1,2,4-Т	РЖ+1,2,4-Т+Б
ТГ, ммоль·л <sup>-1</sup>	Интактные (без стресса)	1,52 [1,36; 1,57]	1,04 [0,98; 1,1] <sup>1</sup>	1,35 [1,29; 1,48]	0,97 [0,92; 1,04] <sup>1</sup>	0,83 [0,79; 0,87] <sup>1</sup>
	Гипоксия	0,27 [0,24; 0,34] <sup>1</sup>	1,2 [1,15; 1,23] <sup>1,2</sup>	1,09 [0,93; 1,12] <sup>1,2</sup>	1,61 [1,55; 1,77] <sup>2</sup>	1,18 [1,15; 1,19] <sup>1,2</sup>
	ИС	0,32 [0,3; 0,33] <sup>1</sup>	0,6 [0,56; 0,62] <sup>1,2</sup>	0,89 [0,75; 0,93] <sup>1,2</sup>	0,49 [0,47; 0,55] <sup>1,2</sup>	1,46 [1,42; 1,53] <sup>2</sup>
ОХС, ммоль·л <sup>-1</sup>	Интактные (без стресса)	1,65 [1,6; 1,68]	1,6 [1,45; 1,61]	1,78 [1,64; 1,79]	1,69 [1,68; 1,75]	1,82 [1,76; 1,87] <sup>1</sup>
	Гипоксия	1,72 [1,7; 1,85] <sup>1</sup>	1,63 [1,63; 1,64] <sup>2</sup>	1,37 [1,36; 1,4] <sup>1,2</sup>	1,64 [1,62; 1,65] <sup>2</sup>	1,58 [1,58; 1,61] <sup>1,2</sup>
	ИС	1,79 [1,74; 1,83] <sup>1</sup>	1,63 [1,59; 1,64] <sup>2</sup>	1,58 [1,52; 1,69] <sup>2</sup>	1,27 [1,22; 1,3] <sup>1,2</sup>	1,63 [1,6; 1,66] <sup>2</sup>
ЛПВП, ммоль·л <sup>-1</sup>	Интактные (без стресса)	0,87 [0,82; 0,88]	0,66 [0,62; 0,67] <sup>1</sup>	0,87 [0,82; 0,89]	0,71 [0,68; 0,73] <sup>1</sup>	0,85 [0,77; 0,92]
	Гипоксия	0,93 [0,92; 0,95] <sup>1</sup>	0,83 [0,77; 0,87] <sup>2</sup>	0,69 [0,62; 0,7] <sup>1,2</sup>	0,75 [0,68; 0,77] <sup>1,2</sup>	0,76 [0,75; 0,83] <sup>1,2</sup>
	ИС	0,95 [0,93; 0,97] <sup>1</sup>	0,83 [0,75; 0,87] <sup>2</sup>	0,89 [0,89; 0,99] <sup>1</sup>	0,69 [0,65; 0,75] <sup>1,2</sup>	0,83 [0,75; 0,84] <sup>2</sup>
ЛПНП, ммоль·л <sup>-1</sup>	Интактные (без стресса)	0,14 [0,07; 0,17]	0,46 [0,3; 0,53] <sup>1</sup>	0,29 [0,15; 0,38] <sup>1</sup>	0,54 [0,5; 0,63] <sup>1</sup>	0,59 [0,57; 0,65] <sup>1</sup>
	Гипоксия	0,67 [0,6; 0,82] <sup>1</sup>	0,28 [0,23; 0,31] <sup>1,2</sup>	0,18 [0,17; 0,29] <sup>1,2</sup>	0,15 [0,14; 0,19] <sup>2</sup>	0,29 [0,21; 0,32] <sup>1,2</sup>
	ИС	0,68 [0,66; 0,73] <sup>1</sup>	0,52 [0,48; 0,6] <sup>1,2</sup>	0,29 [0,26; 0,32] <sup>1,2</sup>	0,34 [0,28; 0,43] <sup>1,2</sup>	0,14 [0,12; 0,19] <sup>2</sup>
ЛПОНП, ммоль·л <sup>-1</sup>	Интактные (без стресса)	0,69 [0,62; 0,71]	0,47 [0,45; 0,5] <sup>1</sup>	0,61 [0,59; 0,67]	0,44 [0,42; 0,47] <sup>1</sup>	0,38 [0,36; 0,4] <sup>1</sup>
	Гипоксия	0,12 [0,11; 0,15] <sup>1</sup>	0,55 [0,52; 0,56] <sup>1,2</sup>	0,5 [0,42; 0,51] <sup>1,2</sup>	0,73 [0,7; 0,8] <sup>1,2</sup>	0,54 [0,52; 0,54] <sup>1,2</sup>
	ИС	0,15 [0,13; 0,15] <sup>1</sup>	0,27 [0,24; 0,28] <sup>1,2</sup>	0,4 [0,34; 0,42] <sup>1,2</sup>	0,22 [0,21; 0,25] <sup>1,2</sup>	0,66 [0,65; 0,7] <sup>2</sup>
Ферритин, мкг·л <sup>-1</sup>	Интактные (без стресса)	221,4 [220,7; 224,3]	238,1 [237,5; 240,4] <sup>1</sup>	223,5 [223,1; 232]	224,7 [223,4; 225,4]	221,4 [220,8; 225,7]
	Гипоксия	254,8 [254,3; 255,7] <sup>1</sup>	203,5 [197,5; 244,1] <sup>2</sup>	210,1 [206,7; 227,5] <sup>2</sup>	245,1 [243,4; 250,2] <sup>1,2</sup>	245,2 [243,1; 253,5] <sup>1,2</sup>
	ИС	243,3 [242,6; 243,8] <sup>1</sup>	235,1 [234,3; 249,5] <sup>1</sup>	223,6 [222,4; 227,8] <sup>2</sup>	210,1 [207,3; 245,7]	227,5 [226,1; 236,4] <sup>1,2</sup>

Примечание: <sup>1</sup> – различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами без лечения (p<0,05); <sup>2</sup> – различия статистически значимы по сравнению с группами «гипоксия» и «ИС» соответственно (p<0,05).

стояниях. Наиболее сильное влияние стресса на липидный метаболизм отражалось в резком повышении уровня липопротеинов низкой плотности (ЛПНП): в 4,8 и 4,9 раза по сравнению с интактной группой (без стресса) для гипоксии и ИС соответственно (табл. 5). Таким образом без лечения вне

зависимости от вида стресса происходит значительное нарушение липидного метаболизма, что отражается в показателях ТГ, ЛПОНП и ЛПНП.

Изучение влияния композиции РЖ + 1,2,4-Т + Б на липидный обмен у интактных крыс показало снижение концентрации ТГ на 44 %. Мы полагаем,



что этот факт обусловлен снижением ЛПОНП на 43 % под действием бетулина и 1,2,4-Т. При этом у интактных крыс под действием композиции РЖ + 1,2,4-Т + Б за счет входящего в ее состав 1,2,4-Т было показано увеличение холестерина на 10 % и ЛПНП на 400 % (табл. 5).

Композиция РЖ + 1,2,4-Т + Б оказывала нормализующее действие на уровень холестерина (ОХС) в условиях гипоксии. При этом композиция приводила к повышению уровня ЛПОНП (на 342 %) и снижению уровней ЛПВП (на 17 %) и ЛПНП (на 59 %) в условиях гипоксии по сравнению с группой без лечения. Композиция РЖ + 1,2,4-Т + Б оказывала нормализующее действие на уровень ТГ, холестерина, ЛПВП, ЛПНП, ЛПОНП при ИС (табл. 5).

Более того, гипоксия и ИС приводят к увеличению уровня ферритина. Содержание ферритина увеличилось на 15 % при гипоксии и на 9 % при ИС. При воздействии 1,2,4-Т содержание ферритина значительно увеличилось (на 11 %) при гипоксии по сравнению с контролем. Небольшое снижение уровня ферритина на 5 % по сравнению с интактными крысами, вероятно, связано с эффектом бетулина. При ИС эффект бетулина является противоположным: содержание ферритина увеличивалось на 7 % по сравнению с контролем. В отличие от результатов для гипоксии, введение 1,2,4-Т также, как и РЖ + 1,2,4-Т + Б, в условиях ИС позволяет нормализовать содержание ферритина в крови.

Таким образом, эксперимент показал, что композиция на основе озонированного рыбьего жира с высоким содержанием ЭПК, ДГК и бетулина нормализуют липидный обмен. Композиция РЖ + 1,2,4-Т + Б оказывала нормализующее действие на большинство показателей липидного и энергетического обмена при гипоксии и ИС у крыс.

Термин 1,2,4-триоксоланы относится к липофильным производным озона, менее токсичным, чем озон, используемый при озонотерапии. При этом 1,2,4-триоксоланы не являются пролекарством в полном смысле этого понятия. Тем не менее, нетоксичные ненасыщенные кислоты при окислении озоном в триглицеридах выступают в роли химической группы, используемой для дериватизации озона. Можно предположить, что в биологической среде 1,2,4-триоксоланы, имеющие ковалентные связи атомов кислорода с атомами углерода в положении 3 и 5 (данные ЯМР [42]), не превращаются в крайне реакционноспособный метаболит типа молекулы озона. Данные морфологических исследований подтверждают отсутствие токсичности изучаемой композиции.

Наиболее общим подходом к оценке воздействия на организм сильных окислителей, в том числе озона, является теория окислительного стресса и экспериментальная проверка воздействия окислителей на липидный метаболизм [43]. Улучшение

липидного обмена у крыс в условиях гипоксии и ИС, а также под действием изучаемой композиции по сравнению с контролем можно объяснить следующим. Во-первых, по принципу отрицательной обратной связи высокие концентрации гормона стресса кортизола блокируют липогенез, что приводит к образованию холестерина, который является предшественником кортизола, уровень которого возрастает во время стресса. Во-вторых, синтез холестерина требует больших затрат энергии и запасов АТФ. В-третьих, с первых по 10-е сутки после стресса в сыворотке крови также повышается уровень катехоламинов и тироксина, ингибируя синтез холестерина [44]. Также на фоне активации симпатoadренальной системы и высокого уровня контринсулярных гормонов наблюдается низкий уровень инсулина, который является стимулятором липогенеза.

Снижение уровня триглицеридов на 10-е сутки после стресса связано с тем, что в этот период на фоне продолжающегося усиленного катаболизма происходит истощение жировых депо. Более того, отсутствие гормоночувствительной липазы панкреатического сока не позволяет всасывать экзогенные триацилглицериды, а дистрофические явления слизистой оболочки кишечника препятствуют их образованию в необходимом количестве.

Минимальный уровень ЛПВП при стрессе свидетельствует о нарушении транспорта липидов в организме, происходит перераспределение холестерина и снижается его количество в сыворотке крови. В результате снижается и концентрация изучаемого липопротеина, который является его носителем.

Сложное влияние 1,2,4-триоксоланов на липидный метаболизм в условиях окислительного стресса является близким к противоречивому влиянию озона на биологические эффекты, что всесторонне обсуждается авторами [43, 45, 46]. Как считают авторы, выявленные нейрорепрессивные, обезболивающие и иммуномодулирующие эффекты озона могут быть связаны с его взаимодействием с эндоканнабиноидной системой. Среди эндоканнабиноидов синаптамид является этаноламидом ДГК, содержащейся в рыбьем жире. Следовательно, следует ожидать синергетический эффект 1,2,4-триоксоланов и ДГК рыбьего жира. С другой стороны, окисление холестерина и его производных может оказывать проапоптотический и провоспалительный эффект [43]. В плазме крови озон может воздействовать как на свободные, так и на этерифицированные полиненасыщенные жирные кислоты [45], связанные с различными семействами циркулирующих липопротеинов. Липопротеины содержат параоксоназу-1, связанную с ЛПНП (проявляющую антиоксидантную и детоксицирующую активность) [47] и РАФ-ацетилгидролазу, связанную с ЛПВП (проявляющую противовоспалительную активность) [48]. Более

того, липопротеины также транспортируют некоторые липофильные антиоксиданты — убихинол, токоферолы и каротиноиды (астаксантин), роль которых заключается в защите ненасыщенных жирных кислот и холестерина от окисления [49]. Липофильные 1,2,4-триоксоланы, кроме антиоксидантного и детоксицирующего эффектов, могут вызывать превращение нативных ЛПНП в окисленные (ox-LDL), уровень которых в плазме считается надежным биомаркером окислительного дистресса [50]. При этом окисленные ЛПНП могут функционировать как гормоны, укрепляя иммунную систему [51].

Нарушение липидного обмена связано с повышением уровня ферритина, что может свидетельствовать о нарушении хранения и транспорта железа в организме. Кроме того, ферритин рассматривают как маркер-индикатор острой фазы воспалительной реакции, как гуморальный фактор восстановительных процессов, блокатор ПОЛ, фактор устойчивости организма к инфекционным агентам [52]. Основной причиной повышения ферритина сыворотки может быть некроз клеток и высвобождение внутриклеточной фракции. Более того, ферритин является не только показателем разрушения тканей при воспалении, но и объективно отражает воспалительные процессы в организме.

Повышение уровня ферритина при гипоксии (на 15 %) и ИС (на 10 %) может быть связано с развитием дефицита  $O_2$  и закисления на фоне недостаточного кровоснабжения тонкой кишки с изменением валентности ферритина ( $Fe^{3+} - Fe^{2+}$ ), представляя собой универсальную форму депо железа [52].

Гипоксия оказывает существенное влияние на метаболизм эритроцитов, проявляющееся ОС, активацией гликолиза и накоплением 2,3-дифосфоглицерата. При гипоксии из внутриклеточных белковых комплексов высвобождается железо, которое рассматривают как один из факторов активации ОС.

Полученные нами результаты и рассуждения переключаются с широкой дискуссией в литературе по способности озона влиять на липидный метаболизм, включая клеточную сигнализацию и ферроптоз, недавно открытый механизм гибели клеток [53–57].

Анализ полученных результатов по воздействию композиций с 1,2,4-триоксоланами в рыбьем жире на липидный метаболизм был бы неполным без учета синергизма их действия с ДГК в рыбьем жире и бетулине, гиполипидемические эффекты которых хорошо известны [22, 23].

Таким образом, эксперимент показал антилипидемический эффект исследуемой композиции на основе 1,2,4-триоксоланов и бетулина из экстракта бересты в рыбьем жире с высоким содержанием ЭПК и ДГК. Композиция РЖ + 1,2,4-Т + Б оказывала

нормализующее действие на большинство показателей липидного обмена в условиях гипоксии и ИС.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В этой работе нами было показано нормализующее действие 1,2,4-триоксоланов с бетулином в рыбьем жире на липидный и энергетический обмен при гипоксии и ИС.

1,2,4-триоксоланы рыбьего жира могут быть элементами профилактики терапии нарушений липидного обмена, вызванных как недостаточными, так и чрезмерными физическими и психоэмоциональными нагрузками, приводящими к гипоксии и ИС. Исследуемая композиция может быть полезна для большого числа групп населения, испытывающих гипоксический и гиподинамический стресс в современном обществе: студентов, офисных работников, пожилых людей, инвалидов и других. Кроме того, учитывая благоприятное влияние на опорно-двигательный аппарат кислородно-озоновой терапии, предшественника «окислительной» фармакотерапии, состояние мышц и мышечную массу, предлагаемая композиция может быть использована в спортивной медицине.

## Конфликт интересов

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

## Conflict of interest

Authors declare no conflict of interest

## Соответствие нормам этики

Авторы подтверждают, что соблюдены права людей, принимавших участие в исследовании, включая получение информированного согласия в тех случаях, когда оно необходимо, и правила обращения с животными в случаях их использования в работе. Подробная информация содержится в Правилах для авторов.

## Compliance with ethical principles

The authors confirm that they respect the rights of the people participated in the study, including obtaining informed consent when it is necessary, and the rules of treatment of animals when they are used in the study. Author Guidelines contains the detailed information.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Sies H., Berndt C., Jones D. P. Oxidative stress // *Ann. Rev. Biochem.* – 2017. – Vol. 86. – P. 715–748. DOI: 10.1146/annurev-biochem-061516-045037.
2. Pizzino G., Irrera N., Cucinotta M. et al. Oxidative stress: harms and benefits for human health // *Oxid. Med. Cell. Longev.* – 2017. – Vol. 2017. – P. 8416763. DOI: 10.1155/2017/8416763.
3. Madamanchi N. R., Vendrov A., Runge M. S. Oxidative stress and vascular disease // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2005. – Vol. 25. – P. 29–38. DOI: 10.1161/01.ATV.0000150649.39934.13.
4. Kattoor A. J., Pothineni N. V. K., Palagiri D., Mehta J. L. Oxidative stress in atherosclerosis // *Curr. Atheroscler. Rep.* – 2017. – Vol. 19. – P. 42. DOI: 10.1007/s11883-017-0678-6.
5. Sinha N., Dabla P. K. Oxidative stress and antioxidants in hypertension—a current review // *Curr. Hypertens. Rev.* –

2015. – Vol. 11. – P. 132–142. DOI: 10.2174/1573402111666150529130922.

6. *Alahmar A. T.* The effects of oral antioxidants on the semen of men with idiopathic oligoasthenoteratozoospermia // *Clin. Exp. Reprod. Med.* – 2018. – Vol. 45. – P. 57–66. DOI: 10.5653/cerm.2018.45.2.57.

7. *Honda T., Hirakawa Y., Nangaku M.* The role of oxidative stress and hypoxia in renal disease // *Kidney Res, Clin, Pract.* – 2019. – Vol. 38, № 4. – P. 414–426. DOI: 10.23876/j.krcp.19.063.

8. *Vassalle C., Maltinti M., Sabatino L.* Targeting oxidative stress for disease prevention and therapy: where do we stand, and where do we go from here // *Molecules.* – 2020. – Vol. 25. – P. 2653. DOI: 10.3390/molecules25112653.

9. *Koech D. K., Herman J. A., Kofi-Tsekpo M. W., Herman S. D.* Trioxolanes: a new generation of compounds with wide ranging activities // *Afr J. Health Sci.* – 1994. – Vol. 1, № 4. – P. 147–150.

10. *Koech D. K.* Clinical applications of trioxolane derivatives // *African Journal of Health Sciences.* – 2008. – Vol. 15, № 1–2. – P. 1–5.

11. *Hartwig C. L., Lauterwasser E. M., Mahajan S. S. et al.* Investigating the antimalarial action of 1,2,4-trioxolanes with fluorescent chemical probes // *J. Med. Chem.* – 2011. – Vol. 54, № 23. – P. 8207–8213. DOI: 10.1021/jm2012003.

12. *Ugazio E., Tullio V., Binello A. et al.* Ozonated oils as antimicrobial systems in topical applications. Their characterization, current applications, and advances in improved delivery techniques // *Molecules.* – 2020. – Vol. 25. – P. 334. DOI: 10.3390/molecules25020334.

13. *Carata E., Tenuzzo B. A., Dini L.* Powerful properties of ozonated extra virgin olive oil // *Herbal Medicine* / eds by P. F. Builders. – London: Intech Open Limited, 2019. – P. 229–245. DOI: 10.5772/intechopen.69412.

14. *De Almeida N. R., Beatriz A., de Arruda E. J. et al.* Ozonized vegetable oils: Production, chemical characterization and therapeutic potential // *Vegetable Oil: Properties, Uses and Benefits* / eds by B. Holt. – New York: Nova Science Publishers, 2016. – P. 129–160.

15. *Menéndez S., Falcón L., Maqueira Y.* Therapeutic efficacy of topical OLEOZON® in patients suffering from onychomycosis // *Mycoses.* – 2011. – Vol. 54. – P. e272–e277. DOI: 10.1111/j.1439-0507.2010.01898.x.

16. *Valacchi G., Zanardi I., Lim Y. et al.* Ozonated oils as functional dermatological matrices: Effects on the wound healing process using SKH1 mice // *Int. J. Pharm.* – 2013. – Vol. 458. – P. 65–73. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2013.09.039.

17. *Kazakova O. B., Kazakov D. V., Yamansarov E. Yu. et al.* Synthesis of triterpenoid-based 1,2,4-trioxolanes and 1,2,4-dioxazolidines by ozonolysis of allobetulin derivatives // *Tetrahedron Lett.* – 2011. – Vol. 52. – P. 976–979. DOI: 10.1016/j.tetlet.2010.12.047.

18. *Seyam O., Smith N. L., Reid I. et al.* Clinical utility of ozone therapy for musculoskeletal disorders // *Med. Gas. Res.* – 2018. – Vol. 8, № 3. – P. 103–110. DOI: 10.4103/2045-9912.241075.

19. *Казакова О. Б., Смирнова И. Е., До Тху Тху Х. и др.* Синтез, структура и фармакологическая активность (7R,8S)-эпокси-(13R,17R)-триоксоланабиетиновой кислоты // *Биоорганическая химия.* – 2013. – Vol. 39, № 2. – P. 230–239. DOI: 10.7868/S0132342313020085.

20. *Толстиков А. Г., Савченко Р. Г., Недопекин Д. В. и др.* Озониды N--трифторацетилN3a,4,5,9b-тетрагидро-3Н-циклопента[с]хинолинов // *Известия РАН. Серия химическая.* – 2011. – Т. 1. – С. 153–160.

21. *Kotue T. C., Djote W. N. B., Marlyne M. et al.* Antisickling and antioxidant properties of Omega-3 fatty acids EPA/DHA // *Nutri. Food. Sci. Int. J.* – 2019. – Vol. 9, № 1. – P. 555752. DOI: 10.19080/NFSIJ.2019.09.555752.

22. Патент № RU2752298C1. Российская Федерация, A23L33/10. Биологически активная добавка к пище для нормализации липидного обмена и способ ее применения: 2020133214 / М. Аль Раджаб, Р. М. Султанов, С. П. Касьянов, Л. В. Шульгина; ННЦМБ ДВО РАН, Общество с ограниченной ответственностью «Биополис»; заявл. 09.10.2020; опубл. 26.07.2021. URL: <https://patentimages.storage.googleapis.com/64/ac/fd/d29af7ec471388/RU2752298C1.pdf>.

23. *Василенко Ю. К., Семенченко В. Ф., Фролова Л. М.* Фармакологические свойства тритерпеноидов коры березы // *Экспериментальная и клиническая фармакология.* – 1993. – Vol. 56, № 4. – С. 53–55.

24. *Толстиков Г. А., Флехтер О. Б., Шульц Э. Э. и др.* Бетулин и его производные. Химия и биологическая активность // *Химия в интересах устойчивого развития.* – 2005. – Т. 13. – С. 1–30.

25. *Флехтер О. Б., Карачурина Л. Т., Поройков В. В. и др.* Синтез эфиров тритерпеноидов группы лупана и их гепатопротекторная активность // *Биоорганическая химия.* – 2000. – Т. 26, № 3. – С. 215–223.

26. *Sega A., Zanardi I., Chiasserini L. et al.* Properties of sesame oil by detailed <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR assignments before and after ozonation and their correlation with iodine value, peroxide value, and viscosity measurements // *Chem. Phys. Lipids.* – 2010. – Vol. 163, № 2. – С. 148–156. DOI: 10.1016/j.chemphyslip.2009.10.010.

27. *Zanardi I., Travagli V., Gabbriellini A. et al.* Physico-chemical characterization of sesame oil derivatives // *Lipids.* – 2008. – Vol. 43, № 9. – P. 877–886. DOI: 10.1007/s11745-008-3218-x.

28. *Хабриев Р. У.* Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Издание 2-е, переработанное и дополненное. – М.: Медицина, 2005.

29. *Солин А. В., Корозин В. И., Ляшев Ю. Д.* Гепатопротективное действие регуляторных пептидов при иммобилизационном стрессе // *Научные ведомости БелГУ. Сер. Медицина. Фармация.* – 2012. – Т. 22, № 141, вып. 20. – С. 123–126.

30. *Рябков А. Н.* Влияние препарата из биомассы культуры ткани женьшеня на биохимические параметры эритроцитов при экспериментальной гипоксии // *Российский медико-биологический вестник им. академика И. П. Павлова.* – 2014. – Т. 22, № 1. – С. 66–71. DOI: 10.17816/PAVLOVJ2014166-71.

31. *Крупаткин А. И., Сидоров В. В.* Функциональная диагностика состояния микроциркуляторно-тканевых систем: колебания, информация, нелинейность: руководство для врачей. – М.: Книжный дом «ЛИБРОКОМ», 2013.

32. *Goltsov A., Anisimova A. V., Zakharkina M. et al.* Bifurcation in blood oscillatory rhythms for patients with ischemic stroke: a small scale clinical trial using laser doppler flowmetry and computational modeling of vasomotion // *Front. Physiol.* – 2017. – Vol. 8. – P. 160. DOI: 10.3389/fphys.2017.00160.

33. *Stefanovska A., Bracic M., Desiree Kvernmo H.* Wavelet analysis of oscillations in the peripheral blood circulation measured by laser doppler technique // *IEEE Transactions on Biomedical Engineering.* – 1999. – Vol. 46, № 10. – P. 1230–1239. DOI: 10.1109/10.790500.

34. *Lal C., Unni S. N.* Correlation analysis of laser Doppler flowmetry signals: a potential non-invasive tool to assess microcirculatory changes in diabetes mellitus // *Med. Biol. Eng. Comput.* – 2015. – Vol. 53, № 6. – P. 557–566. DOI: 10.1007/s11517-015-1266-y.

35. *Кершенгольц Б. М., Серкина Е. В.* Некоторые методические подходы к изучению метаболизма этанола // *Лабораторное дело.* – 1981. – Т. 2. – С. 126.



36. Кочетов Г. А. Практическое руководство по энзимологии. – М.: Высшая школа, 1980. – 272 с.
37. Kalb V. F. Jr, Bernlohr R. W. A new spectrophotometric assay for protein in cell extracts // *Anal. Biochem.* – 1977. – Vol. 82, № 2. – P. 362–371. DOI: 10.1016/0003-2697(77)90173-7.
38. Abel L. L., Levy B. B., Brodie B. B., Kendall F. E. A simplified method for estimation of total cholesterol in serum and demonstration of its specificity // *J. Biol. Chem.* – 1952. – Vol. 195, № 1. – P. 357–366.
39. Flegg H. M. Measurement of total cholesterol – Phosphotungstic acid method // *Ann. Biochem.* – 1973. – Vol. 10. – P. 1350–1356.
40. Wieland H., Siedel D. HDL cholesterol estimation // *Artzl. Lab.* – 1981. – Vol. 27. – P. 141–154.
41. Friedewald W. T., Levy R. I., Fredrickson D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge // *Clin. Chem.* – 1972. – Vol. 18. – P. 499–502.
42. Melnikova N. B., Malygina D. S., Yastrebov P. V. et al. The Effect of 1,2,4-trioxolanes with betulin in fish oil on oxidative and energy metabolism under hypoxia and immobilization stress in rats // *OM&P.* – 2023. – Vol. 10, № 3. – P. 32–48. DOI: 10.24412/2500-2295-2023-3-32-48.
43. Travagli V., Iorio E. L. The biological and molecular action of ozone and its derivatives: state-of-the-art, enhanced scenarios, and quality insights // *Int. J. Mol. Sci.* – 2023. – Vol. 24. – P. 8465. DOI: 10.3390/ijms24108465.
44. Артемьев С. А., Камзалакова Н. И., Булыгин Г. В. Содержание липидов сыворотки крови при обширных ожогах у детей разного возраста // *Бюллетень сибирской медицины.* – 2008. – Т. 4. – С. 93–99. DOI: 10.20538/1682-0363-2008-4-93-99.
45. Tricarico G., Travagli V. The relationship between ozone and human blood in the course of a well-controlled, mild, and transitory oxidative eustress // *Antioxidants.* – 2021. – Vol. 10. – P. 1946. DOI: 10.3390/antiox10121946.
46. Malatesta M., Cisterna B., Costanzo M. Cellular and molecular mechanisms of ozone therapy: Present knowledge and prospective applications // *Int. J. Mol. Sci.* – 2022. – Vol. 23. – P. 12586. DOI: 10.3390/ijms232012586.
47. Bacchetti T., Ferretti G., Carbone F. et al. Dysfunctional high-density lipoprotein: The role of myeloperoxidase and paraoxonase-1 // *Curr. Med. Chem.* – 2021. – Vol. 28. – P. 2842–2850. DOI: 10.2174/0929867327999200716112353.
48. Zhang S., Huang S., Hu D. et al. Biological properties and clinical significance of lipoprotein-associated phospholipase A2 in ischemic stroke // *Cardiovasc. Ther.* – 2022. – Vol. 2022. – P. 3328574. DOI: 10.1155/2022/3328574.
49. Pallotti F., Bergamini C., Lamperti C., Fato R. The roles of coenzyme Q in disease: Direct and indirect involvement in cellular functions // *Int. J. Mol. Sci.* – 2021. – Vol. 23. – P. 128. DOI: 10.3390/ijms23010128.
50. Groh L. A., Ferreira A. V., Helder L. et al. OxLDL-induced trained immunity is dependent on mitochondrial metabolic reprogramming // *Immunometabolism.* – 2021. – Vol. 3. – P. e210025. DOI: 10.20900/immunometab20210025.
51. Keating S. T., Groh L., Thiem K. et al. Rewiring of glucose metabolism defines trained immunity induced by oxidized low-density lipoprotein // *J. Mol. Med.* – 2020. – Vol. 98. – P. 819–831. DOI: 10.1007/s00109-020-01915-w.
52. Кузнецов И. А., Потиевская В. И., Качанов И. В., Куралева О. О. Роль ферритина в биологических средах человека // *Современные проблемы науки и образования.* – 2017. – Т. 5. – С. 206–214.
53. Gaschler M. M., Stockwel B. R. Lipid peroxidation in cell death // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2017. – Vol. 482. – P. 419–425. DOI: 10.1016/j.bbrc.2016.10.086.
54. Su L. J., Zhang J. H., Gomez H. et al. Reactive oxygen species-induced lipid peroxidation in apoptosis, autophagy, and ferroptosis // *Oxid. Med. Cell Longev.* – 2019. – Vol. 2019. – P. 5080843. DOI: 10.1155/2019/5080843.
55. Li J., Cao F., Yin H. L. et al. Ferroptosis: Past, present and future // *Cell Death Dis.* – 2020. – Vol. 11. – P. 88. DOI: 10.1038/s41419-020-2298-2.
56. Ursini F., Maiorino M. Lipid peroxidation and ferroptosis: The role of GSH and GPx4 // *Free Radic. Biol. Med.* – 2020. – Vol. 152. – P. 175–185. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2020.02.027.
57. Kajarabille N., Latunde-Dada G. O. Programmed cell death by ferroptosis: Antioxidants as mitigators // *Int. J. Mol. Sci.* – 2019. – Vol. 20. – P. 4968. DOI: 10.3390/ijms20194968.

## REFERENCES

1. Sies H., Berndt C., Jones D. P. Oxidative stress // *Annu. Rev. Biochem.* 2017;86:715–748. DOI: 10.1146/annurev-biochem-061516-045037.
2. Pizzino G., Irrera N., Cucinotta M. et al. Oxidative stress: harms and benefits for human health // *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2017;2017:8416763. DOI: 10.1155/2017/8416763.
3. Madamanchi N. R., Vendrov A., Runge M. S. Oxidative stress and vascular disease // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2005;25:29–38. DOI: 10.1161/01.ATV.0000150649.39934.13.
4. Kattoor A. J., Pothineni N. V. K., Palagiri D., Mehta J. L. Oxidative stress in atherosclerosis // *Curr. Atheroscler. Rep.* 2017;19:42. DOI: 10.1007/s11883-017-0678-6.
5. Sinha N., Dabla P. K. Oxidative stress and antioxidants in hypertension—a current review // *Curr. Hypertens. Rev.* 2015;11:132–142. DOI: 10.2174/1573402111666150529130922.
6. Alahmar A. T. The effects of oral antioxidants on the semen of men with idiopathic oligoasthenoteratozoospermia // *Clin. Exp. Reprod. Med.* 2018;45:57–66. DOI: 10.5653/cerm.2018.45.2.57.
7. Honda T., Hirakawa Y., Nangaku M. The role of oxidative stress and hypoxia in renal disease // *Kidney Res. Clin. Pract.* 2019;38(4):414–426. DOI: 10.23876/j.krcp.19.063.
8. Vassalle C., Maltinti M., Sabatino L. Targeting oxidative stress for disease prevention and therapy: where do we stand, and where do we go from here // *Molecules.* 2020;25:2653. DOI: 10.3390/molecules25112653.
9. Koech D. K., Herman J. A., Kofi-Tsekpo M. W., Herman S. D. Trioxolanes: a new generation of compounds with wide ranging activities // *Afr J. Health Sci.* 1994;1(4):147–150.
10. Koech D. K. Clinical applications of trioxolane derivatives // *Afr J. Health Sci.* 2008;15(1–2):1–5.
11. Hartwig C. L., Lauterwasser E. M., Mahajan S. S. et al. Investigating the antimalarial action of 1,2,4-trioxolanes with fluorescent chemical probes // *J. Med. Chem.* 2011;54(23):8207–8213. DOI: 10.1021/jm2012003.
12. Ugazio E., Tullio V., Binello A. et al. ozonated oils as antimicrobial systems in topical applications. Their characterization, current applications, and advances in improved delivery techniques // *Molecules.* 2020;25:334. DOI: 10.3390/molecules25020334.
13. Carata E., Tenuzzo B. A., Dini L. Powerful properties of ozonated extra virgin olive oil // *Herbal Medicine / eds by P. Builders.* London: IntechOpen Limited, 2019:229–245. DOI: 10.5772/intechopen.69412.
14. De Almeida N. R., Beatriz A., de Arruda E. J. et al. Ozonized vegetable oils: production, chemical characterization and therapeutic potential // *Vegetable oil: properties, uses and benefits / eds by B. Holt.* New York: Nova Science Publishers, 2016:129–160.



15. Menéndez S., Falcón L., Maqueira Y. Therapeutic efficacy of topical OLEOZON® in patients suffering from onychomycosis // *Mycoses*. 2011;54:e272–e277. DOI: 10.1111/j.1439-0507.2010.01898.x.
16. Valacchi G., Zanardi I., Lim Y. et al. Ozonated oils as functional dermatological matrices: Effects on the wound healing process using SKH1 mice // *Int. J. Pharm.* 2013; 458:65–73. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2013.09.039.
17. Kazakova O. B., Kazakov D. V., Yamansarov E. Yu. et al. Synthesis of triterpenoid-based 1,2,4-trioxolanes and 1,2,4-dioxazolidines by ozonolysis of allobetulin derivatives // *Tetrahedron Lett.* 2011;52:976–979. DOI: 10.1016/j.tetlet.2010.12.047.
18. Seyam O., Smith N. L., Reid I. et al. Clinical utility of ozone therapy for musculoskeletal disorders // *Med. Gas. Res.* 2018;8(3):103–110. DOI: 10.4103/2045-9912.241075.
19. Kazakova O. B., Smirnova I. E., Do Tkhi Tkhu H. et al. Synthesis, structure, and pharmacological activity of (7R,8S)-epoxy-(13R,17R)-trioxolane abietic acid // *Russ. J. Bioorg. Chem.* 2013;39(2):202–210. (In Russ.). DOI: 10.1134/S1068162013020088.
20. Tolstikov A. G., Savchenko R. G., Nedopekin D. V. et al. N-Trifluoroacetyl-3a,4,5,9b-tetrahydro-3H-cyclopenta[c]quinoline ozonides // *Russ. Chem. Bull.* 2011;60(1):160–167. (In Russ.). DOI: 10.1007/s11172-011-0024-z.
21. Kotue T. C., Djote W. N. B., Marlyne M. et al. Antisickling and antioxidant properties of Omega-3 fatty acids EPA/DHA // *Nutri. Food. Sci. Int. J.* 2019;9(1):555752. DOI: 10.19080/NFSIJ.2019.09.555752.
22. Patent No. RU2752298C1 Russian Federation, A23L33/10. Biologically active dietary supplement for normalising lipid metabolism and method for application thereof: 2020133214 / M. Al Rajab, R. M. Sultanov, S. P. Kasyanov, L. V. Shulgina. Appl. 09/10/2020 : publ. 26/07/2021; applicant NNTSMB DVO RAN, Obshchestvo s ogranichennoj otvetstvennostyu "Biopolis". Available at: <https://patentimages.storage.googleapis.com/64/ac/fd/d29af7ec471388/RU2752298C1.pdf>.
23. Vasilenko Yu. K., Semenchenko V. F., Frolova L. M. Pharmacological properties of birch bark triterpenoids // *Experimental and clinical pharmacology*. 1993;56(4):53–55. (In Russ.).
24. Tolstikov G. A., Flekhter O. B., Shultz E. E. et al. Betulin and its derivatives. Chemistry and biological activity // *Chemistry for sustainable development*. 2005;13:1–30. (In Russ.).
25. Flekhter O. B., Karachurina L. T., Poroikov V. V. et al. The synthesis and hepatoprotective activity of esters of the lupane group triterpenoids // *Russ. J. Bioorg. Chem.* 2000; 26:192–200. DOI: 10.1007/BF02786345.
26. Sega A., Zanardi I., Chiasserini L. et al. Properties of sesame oil by detailed 1H and 13C NMR assignments before and after ozonation and their correlation with iodine value, peroxide value, and viscosity measurements // *Chem. Phys. Lipids*. 2010;163(2):148–156. DOI: 10.1016/j.chemphyslip.2009.10.010.
27. Zanardi I., Travagli V., Gabbrielli A. et al. Physico-chemical characterization of sesame oil derivatives // *Lipids*. 2008;43(9):877–886. DOI: 10.1007/s11745-008-3218-x.
28. Khabriev R. U. Guidelines for the experimental (pre-clinical) study of new pharmacological substances. 2nd edition, revised and enlarged. Moscow, Medicina, 2005. (In Russ.).
29. Solin A. V., Korozin V. I., Lyashev Yu. D. Hepatoprotective effect of regulatory peptides under immobilization stress // *Scientific bulletins of Belgorod National Research University. Medicine. Pharmacy*. 2012;22(141), issue 20:123–126. (In Russ.).
30. Ryabkov A. N. Influence of preparation from the biomass of ginseng on biochemical parameters of erythrocytes at experimental hypoxia // *I. P. Pavlov Russian Medical Biological Herald*. 2014;22(1):66–71. DOI: 10.17816/PAV-LOVJ2014166-71. (In Russ.).
31. Krupatkin A. I., Sidorov V. V. Functional diagnostics of the state of microcirculatory tissue systems: fluctuations, information, nonlinearity: a guide for doctors. Moscow, Book house "LIBROKOM", 2013. (In Russ.).
32. Goltsov A., Anisimova A. V., Zakharkina M. et al. Bifurcation in blood oscillatory rhythms for patients with ischemic stroke: a small scale clinical trial using laser doppler flowmetry and computational modeling of vasomotion // *Front. Physiol.* 2017;8:160. DOI: 10.3389/fphys.2017.00160.
33. Stefanovska A., Bracic M., Desiree Kvernmo H. Wavelet analysis of oscillations in the peripheral blood circulation measured by laser doppler technique // *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*. 1999;46(10):1230–1239. DOI: 10.1109/10.790500.
34. Lal C., Unni S. N. Correlation analysis of laser Doppler flowmetry signals: a potential non-invasive tool to assess microcirculatory changes in diabetes mellitus // *Med. Biol. Eng. Comput.* 2015; 53(6):557–566. DOI: 10.1007/s11517-015-1266-y.
35. Kershengolts B. M., Serkina E. V. Some methodological approaches to the study of ethanol metabolism // *Laboratornoe delo*. 1981;2:126. (In Russ.).
36. Kochetov G. A. Practical guide to enzymology. Moscow, Higher School, 1980:276.
37. Kalb V. F. Jr, Bernlohr R. W. A new spectrophotometric assay for protein in cell extracts // *Anal. Biochem.* 1977; 82(2):362–371. DOI: 10.1016/0003-2697(77)90173-7.
38. Abel L. L., Levy B. B., Brodie B. B., Kendall F. E. A simplified method for estimation of total cholesterol in serum and demonstration of its specificity // *J. Biol. Chem.* 1952; 195(1):357–366.
39. Flegg H. M. Measurement of total cholesterol – Phosphotungstic acid method // *Ann. Biochem.* 1973;10:1350–1356.
40. Wieland H., Siedel D. HDL cholesterol estimation // *Artzl. Lab.* 1981;27:141–154.
41. Friedewald W. T., Levy R. I., Fredrickson D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge // *Clin. Chem.* 1972;18:499–502.42
42. Melnikova N.B., Malygina D.S., Yastrebov P.V. et al. The Effect of 1,2,4-trioxolanes with betulin in fish oil on oxidative and energy metabolism under hypoxia and immobilization stress in rats // *OM&P*. 2023;10(3):32–48. DOI: 10.24412/2500-2295-2023-3-32-48.
43. Travagli V., Iorio E. L. The biological and molecular action of ozone and its derivatives: state-of-the-art, enhanced scenarios, and quality insights // *Int. J. Mol. Sci.* 2023; 24:8465. DOI: 10.3390/ijms24108465.
44. Artem'yev S. A., Kamzalakova N. I., Bulygin G. V. The content of blood serum lipids in extensive burns in children of different ages // *Byulleten' sibirskoy meditsiny*. 2008;4:93–99. (In Russ.). DOI: 10.20538/1682-0363-2008-4-93-99.
45. Tricarico G., Travagli V. The relationship between ozone and human blood in the course of a well-controlled, mild, and transitory oxidative eustress // *Antioxidants*. 2021; 10:1946. DOI: 10.3390/antiox10121946.
46. Malatesta M., Cisterna B., Costanzo M. Cellular and molecular mechanisms of ozone therapy: Present knowledge and prospective applications // *Int. J. Mol. Sci.* 2022;23:12586. DOI: 10.3390/ijms232012586.
47. Bacchetti T., Ferretti G., Carbone F. et al. Dysfunctional high-density lipoprotein: The role of myeloperoxidase and paraoxonase-1 // *Curr. Med. Chem.* 2021;28:2842–2850. DOI: 10.2174/0929867327999200716112353.

48. Zhang S., Huang S., Hu D. et al. Biological properties and clinical significance of lipoprotein-associated phospholipase A2 in ischemic stroke // *Cardiovasc. Ther.* 2022; 2022:3328574. DOI: 10.1155/2022/3328574.
49. Pallotti F., Bergamini C., Lamperti C., Fato R. The roles of coenzyme Q in disease: Direct and indirect involvement in cellular functions // *Int. J. Mol. Sci.* 2021;23:128. DOI: 10.3390/ijms23010128.
50. Groh L. A., Ferreira A. V., Helder L. et al. OxLDL-induced trained immunity is dependent on mitochondrial metabolic reprogramming. *Immunometabolism.* 2021;3:e210025. DOI: 10.20900/immunometab20210025.
51. Keating S. T., Groh L., Thiem K. et al. Rewiring of glucose metabolism defines trained immunity induced by oxidized low-density lipoprotein // *J. Mol. Med.* 2020;98:819–831. DOI: 10.1007/s00109-020-01915-w.
52. Kuznetsov I. A., Potievskaya V. I., Kachanov I. V., Kuraleva O. O. The role of ferritin in human biological environments // *Modern Problems of Science and Education. Surgery.* 2017;5: 206–214. (In Russ.).
53. Gaschler M. M., Stockwel B. R. Lipid peroxidation in cell death // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2017;482:419–425. DOI: 10.1016/j.bbrc.2016.10.086.
54. Su L. J., Zhang J. H., Gomez H. et al. Reactive oxygen species-induced lipid peroxidation in apoptosis, autophagy, and ferroptosis // *Oxid. Med. Cell Longev.* 2019; 2019:5080843. DOI: 10.1155/2019/5080843.
55. Li J., Cao F., Yin H. L. et al. Ferroptosis: Past, present and future // *Cell Death Dis.* 2020;11:88. DOI: 10.1038/s41419-020-2298-2.
56. Ursini F., Maiorino M. Lipid peroxidation and ferroptosis: The role of GSH and GPx4 // *Free Radic. Biol. Med.* 2020; 152:175–185. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2020.02.027.
57. Kajarabille N., Latunde-Dada G. O. Programmed cell death by ferroptosis: Antioxidants as mitigators // *Int. J. Mol. Sci.* 2019;20:4968. DOI: 10.3390/ijms20194968.

### Информация об авторах

**Мельникова Нина Борисовна**, доктор химических наук, профессор кафедры аналитической и медицинской химии, Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского (г. Нижний Новгород, Россия), ORCID: 0000-0003-1335-1048; **Мальгина Дарина Сергеевна**, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии, Приволжский исследовательский медицинский университет (г. Нижний Новгород, Россия), ORCID: 0000-0002-6962-8547; **Ястребов Павел Викторович**, генеральный директор, Нижегородская областная фармация (г. Нижний Новгород, Россия), ORCID: 0009-0008-0443-9527; **Спицкая Ирина Вячеславовна**, кандидат фармацевтических наук, зав. кафедрой управления и экономики фармации и фармацевтической технологии, Приволжский исследовательский медицинский университет (г. Нижний Новгород, Россия), ORCID: 0009-0000-9294-0435; **Соловьева Анна Геннадьевна**, доктор биологических наук, старший научный сотрудник ЦНИЛ, Приволжский исследовательский медицинский университет (г. Нижний Новгород, Россия), доцент кафедры биохимии и биотехнологии Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского (г. Нижний Новгород, Россия), ORCID: 0000-0001-6890-4530; **Фаянс Анна Эдуардовна**, первый заместитель генерального директора, Нижегородская областная фармация (г. Нижний Новгород, Россия), ORCID: 0009-0003-7150-4599; **Есипович Антон Львович**, кандидат химических наук, зав. научно-исследовательской лабораторией «Лаборатория биотоплив» (BioFuelLAB), Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского (г. Нижний Новгород, Россия), ORCID: 0000-0002-2680-0562.

### Information about the authors

**Melnikova Nina B.**, Dr. of Sci. (Chem.), Professor of the Department of Analytical and Medicinal Chemistry, National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod (Nizhny Novgorod, Russia), ORCID: 0000-0003-1335-1048; **Malygina Darina S.**, Cand. of Sci. (Pharm.), Associate Professor of the Department of Pharmaceutical Chemistry, Privolzhsky Research Medical University (Nizhny Novgorod, Russia), ORCID: 0000-0002-6962-8547; **Yastrebov Pavel V.**, Director General, Pharmacy of the Nizhny Novgorod region (Nizhny Novgorod, Russia), ORCID: 0009-0008-0443-9527; **Spitskaya Irina V.**, Cand. of Sci. (Pharm.), Head of the Department of Management and Economics of Pharmacy and Pharmaceutical Technology, Privolzhsky Research Medical University (Nizhny Novgorod, Russia), ORCID: 0009-0000-9294-0435; **Soloveva Anna G.**, Dr. of Sci. (Biol.), Senior Research Fellow of Central Research Laboratory, Privolzhsky Research Medical University, Associate Professor of the Department of Biochemistry and Biotechnology, National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod (Nizhny Novgorod, Russia), ORCID: 0000-0001-6890-4530; **Fayans Anna E.**, Deputy Director, Pharmacy of the Nizhny Novgorod region (Nizhny Novgorod, Russia), ORCID: 0009-0003-7150-4599; **Esipovich Anton L.**, Cand. of Sci. (Chem.), Head of the Research Laboratory «Laboratory of Biofuels» (BioFuelLAB), National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod (Nizhny Novgorod, Russia), ORCID: 0000-0002-2680-0562.