

ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЙ ЭФФЕКТ ВНУТРИБРЮШИННОГО ПРИМЕНЕНИЯ ОЗОНА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ КОЛИТЕ

Осиков М.В.^{1,2}, Кайгородцева Н.В.^{1,2}, Бойко М.С.¹

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Челябинск, e-mail: ri-tochka9@list.ru;

²Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Челябинская областная клиническая больница, Челябинск

Воспалительные заболевания кишечника (ВЗК) имеют прогрессирующее рецидивирующее течение со множеством системных проявлений и осложнений, что служит причиной инвалидизации трудоспособного населения. Целью исследования послужила оценка противовоспалительного эффекта озона при внутрибрюшинном применении при экспериментальном колите. Материалом для исследования выбраны крысы-самцы линии Wistar. Оксазолон-индуцированный колит (ОИК) моделировали двухэтапным применением оксазолон, внутрибрюшинные инсуффляции озона в озонкислородной смеси (ОКС) осуществляли ежедневно. Ректальные суппозитории с 5-аминосалициловой кислотой (5-АСК) применяли каждые 12 часов. Исследовали морфологическую картину поражения толстой кишки (определяли диаметр язвенного дефекта, плотность сосудистой сети, для оценки повреждения ткани толстой кишки – индекс повреждения тканей (tissue damage index, TDI)), показатели ответа острой фазы в крови (общее количество лейкоцитов в крови, концентрацию в сыворотке С-реактивного белка). На 2-е, 4-е, 6-е сутки от индукции оксазолон-индуцированного колита наблюдалась максимальная выраженность морфологических признаков повреждения в толстой кишке и концентрации С-РБ в сыворотке – на 4-е и 6-е сутки, количество в крови нейтрофилов, моноцитов – на 2-е сутки. Применение ОКС при ОИК в очаге повреждения на 2-е, 4-е, 6-е сутки приводило к сокращению диаметра язвенного дефекта, увеличению площади распределения сосудов, снижению интегрального показателя повреждения ткани TDI.

Ключевые слова: озон, оксазолон-индуцированный колит, воспалительные заболевания кишечника.

ANTI-INFLAMMATORY EFFECT OF INTRAPERITONEAL OZONE APPLICATION IN EXPERIMENTAL COLITIS

Osikov M.V.^{1,2}, Kaygorodtseva N.V.^{1,2}, Boyko M.S.¹

¹Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «South-Ural State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Chelyabinsk, e-mail: ri-tochka9@list.ru;

²Chelyabinsk Regional Clinical Hospital, Chelyabinsk

Inflammatory bowel disease (IBD) has a progressive relapsing course with many systemic manifestations and complications, which causes disability in the working population. The aim of the study was to evaluate the anti-inflammatory effect of ozone when administered intraperitoneally in experimental colitis. Male rats of the Wistar line were chosen as the material for the study. Oxazolone-induced colitis (OIC) was modeled by a two-stage application of oxazolone, intraperitoneal insufflations of ozone in an ozone-oxygen mixture (OCM) were performed daily. 5-Aminosalicylic acid (5-ASA) rectal suppositories were administered every 12 hours. We studied the morphological picture of the colon lesion (determined the diameter of the ulcerative defect, the density of the vascular network, to assess the damage to the tissue of the colon - tissue damage index (tissue damage index, TDI)), indicators of the acute phase response in the blood (total number of leukocytes in the blood, concentration in serum C-reactive protein). On the 2nd, 4th, and 6th days after the induction of oxazolone-induced colitis, the maximum severity of morphological signs of damage in the large intestine and the concentration of C-RP in serum were observed on the 4th and 6th days, and the number of neutrophils and monocytes in the blood was observed on 2nd day. The use of ACS in OIC in the lesion on the 2nd, 4th, 6th day led to a reduction in the diameter of the ulcer, an increase in the area of distribution of blood vessels, and a decrease in the integral indicator of tissue damage TDI.

Keywords: ozone, oxazolone-induced colitis, inflammatory bowel diseases.

Воспалительные заболевания кишечника (ВЗК) характеризуются хроническим воспалением желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), которым страдают более 6 млн человек во

всем мире [1, 2]. Болезнь Крона (БК) – это сегментарное, асимметричное и трансмуральное воспаление, которое может поражать весь ЖКТ, но чаще наблюдается в подвздошной и толстой кишках. ЯК связан с воспалением слизистой оболочки от прямой кишки до проксимального отдела толстой кишки [3–5]. Лечение ВЗК имеет первостепенное значение для качества жизни пациентов, поскольку заболевание оказывает большое влияние на физические, психологические и социальные аспекты жизни. В этиологии заболевания сочетаются несколько факторов: генетическая предрасположенность, дефекты врожденного и приобретенного иммунитета, неблагоприятные изменения кишечной микрофлоры, а также факторы окружающей среды. Под воздействием факторов риска происходят активация Th1/Th2, гиперэкспрессия провоспалительных цитокинов. В результате происходит формирование лимфоплазмацитарной инфильтрации с деструкцией стенки толстой кишки с характерными макроскопическими изменениями и развитием клинической картины. В 30% случаев отмечается непереносимость препаратов базисной терапии (5-аминосалициловой кислоты, глюкокортикостероидов), поэтому по-прежнему актуальны разработка и внедрение в лечебную практику эффективных стратегий по терапии ВЗК [6]. Ранее в эксперименте нами продемонстрирован положительный эффект локального применения при ВЗК куркумина, витамина D3, эритропоэтина в составе оригинальных лекарственных средств [7–9]. К методам патогенетической терапии можно отнести физические методы, которые не являются альтернативой фармакологическим методам, но которые могут дополнять, потенцировать действие лекарственных средств. В этом отношении перспективным направлением в медицине представляется применение медицинского озона за счет его противовоспалительного, антиоксидантного, иммуномодулирующего действия.

Цель исследования. Оценить противовоспалительный эффект озона при внутрибрюшинном применении при экспериментальном колите.

Материалы и методы исследования. Эксперимент одобрен этическим комитетом федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Воровского 64, Челябинск, Россия), протокол № 1 от 22.05.2020 г. Животных содержали согласно стандартам в условиях вивария. Обращение с животными соответствовало правилам гуманного отношения и выведения из опыта животных, определенным Директивой 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза от 22.09.2010 г. по охране животных для научных целей. Материалом для исследования послужили 72 крысы линии Wistar массой 220 ± 10 г, которых с помощью генератора случайных чисел разделили на 4 группы: I ($n=9$) — интактный контроль, II ($n=21$) — животные с оксазолон-индуцированным колитом (ОИК), III ($n=21$) — животные с ОИК на фоне

внутрибрюшинной инсуффляции ОКС, IV ($n=21$) — животные с ОИК, получающие ректальные суппозитории с 5-аминосалициловой кислотой (5-АСК). Применяли внутривенную анестезию золетилом в дозировке 0,02 г/кг (МНН: тилетамина гидрохлорид) (Virbac Sante Animale; Франция). ОИК моделировали с помощью двух этапов применения 3%-ного спиртового раствора оксазолон (4-этоксиметилен-2-фенил-2-оксазолин-5-он). На первом этапе сенсibilizировали кожу путем нанесения 675 мкл/кг спиртового раствора оксазолон на область между лопаток, во втором этапе ректально вводили 675 мкл/кг в толстую кишку на глубину 7 см [10]. Озонкислородную смесь (ОКС) получали на аппарате «УОТА-60-01» («Медозон», Россия). Верификацию ОИК проводили по оценке морфологии участка повреждения в толстой кишке. Суппозитории с 50 мг 5-АСК в каждом суппозитории для крыс готовили на основе препарата «Салофальк» (МНН: Месалазин, «Doctor Falk Pharma GmbH», Германия). Животных выводили из эксперимента на 2-е, 4-е и 6-е сутки от индукции ОИК. Определяли диаметр язвенного дефекта, плотность сосудистой сети, оценивали повреждения толстой кишки по индексу повреждения тканей (tissue damage index, TDI) от 0 до 6 с учетом лейкоцитарной фильтрации, плотности сосудов и толщины стенки кишечника, площади повреждения, утраты бокаловидных клеток [11]. Общее количество лейкоцитов в крови исследовали на гематологическом анализаторе, откалиброванном для крови крыс, «BC-2800Vet» («Mindray», Китай). Концентрацию в сыворотке С-реактивного белка (С-РБ) определяли с помощью специфической для крыс тест-системы («ElisaKit», Китай). Полученные данные обрабатывали с помощью программы IBM SPSS Statistics v. 19. Характеристика выборок представлена в виде «Me (Q1; Q3)», где Me – медиана, Q1 и Q3 – значение нижнего и верхнего квартиля соответственно. Проверку статистических гипотез в группах проводили с использованием непараметрических критериев (Манна–Уитни, Вальда–Вольфовитца, Краскелла–Уоллиса). Статистические различия между группами с учетом поправки Бонферрони считали значимыми при $p \leq 0,02$.

Результаты исследования и их обсуждение. Отражением развития ОИК является морфологическая картина толстой кишки: на 2-е сутки в очаге повреждения отмечены язвенные дефекты в слизистой оболочке, подслизистый слой разрыхлен, резко утолщен за счет выраженного отека, увеличена плотности сосудистой сети; TDI варьировал от 2 до 3 ед. На 4-е и 6-е сутки увеличение TDI происходило преимущественно за счет дальнейшего увеличения размера язвенного дефекта, толщины стенки кишечника без значимого увеличения плотности сосудистой сети; TDI варьировал от 3 до 4 ед. и в динамике ОИК на 4-е и 6-е сутки был больше ($p < 0,01$), чем на 2-е сутки (табл. 1). Изменения в очаге повреждения, связанные с воспалительным процессом, нашли отражение в показателях ответа острой фазы в крови (табл. 2). На 2-е сутки ОИК в крови увеличивалось количество лейкоцитов за счет палочкоядерных

и сегментоядерных нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов. На 2-е, 4-е и 6-е сутки ОИК наблюдалось увеличение количество лейкоцитов в крови за счет сегментоядерных нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов (только на 6-е сутки). Наряду с этим на 2-е, 4-е и 6-е сутки повышалась концентрация С-РБ в сыворотке. В динамике ОИК на 4-е и 6-е сутки в крови общее количество лейкоцитов и сегментоядерных нейтрофилов меньше ($p < 0,01$), чем на 2-е сутки, количество эозинофилов и концентрация С-РБ в сыворотке больше ($p < 0,01$), чем на 2-е сутки.

Таким образом, при ОИК на 2-е, 4-е и 6-е сутки увеличиваются индекс повреждения ткани толстой кишки TDI, количество лейкоцитов в крови преимущественно за счет лимфоцитов, С-РБ в сыворотке; максимальная выраженность морфологических признаков повреждения в толстой кишке и концентрации С-РБ в сыворотке – на 4-е и 6-е сутки, максимальные количество в крови нейтрофилов, моноцитов – на 2-е сутки. Морфологическая картина поражения толстой кишки, показатели ответа острой фазы в крови при ОИК соответствуют изменениям при ВЗК у человека, что способствует применению оксазолоновой модели колита для изучения патогенеза и апробации эффективности применения новых терапевтических стратегий при ВЗК [12].

Применение ОКС при ОИК в очаге повреждения на 2-е, 4-е, 6-е сутки приводило к сокращению диаметра язвенного дефекта, увеличению площади распределения сосудов, снижению интегрального показателя повреждения ткани TDI (табл. 1). Полагаем, что увеличение площади сосудов отражает пролиферацию неоангиогенеза и ускорение репаративных реакций в области повреждения.

Ранее нами показано, что внутрибрюшинные инсуффляции озона при ОИК усиливают окислительную деструкцию белков и липидов в очаге повреждения толстой кишки на 2-е сутки, что обусловлено прямыми окислительными свойствами озона, его способностью выступать в качестве прооксиданта [13]. На начальных этапах воспаления озон активирует факторы транскрипции, такие как NF- κ B и NF- κ B, повышает продукцию провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-6 и TNF- α [14]. Наряду с этим обнаружены системные изменения в крови при ОИК в условиях внутрибрюшинного применения озона (табл. 2). Количество лейкоцитов в крови снижалось на 2-е, 4-е и 6-е сутки преимущественно за счет лимфоцитов, палочкоядерных нейтрофилов на 2-е сутки, эозинофилов – на 4-е сутки и моноцитов – на 6-е сутки; на 4-е сутки увеличивалось количество сегментоядерных нейтрофилов в крови. Общее количество лейкоцитов и нейтрофилов на 2-е, 4-е и 6-е сутки, количество лимфоцитов и моноцитов на 2-е сутки значимо отличалось от аналогичных показателей контрольной группы. Концентрация в сыворотке С-РБ снижалась на 4-е и 6-е сутки, но не достигла уровня интактных животных на 6-е сутки ОИК.

Таким образом, при экспериментальном ОИК в условиях внутрибрюшинного применения озона на 4-е и 6-е сутки наблюдения снижается выраженность морфологических признаков повреждения толстой кишки по показателю TDI, снижается концентрация С-РБ в сыворотке; на 2-е, 4-е, 6-е сутки снижается в крови общее количество лейкоцитов и количество лимфоцитов. Полагают, что противовоспалительные эффекты озона реализуются за счет активации транскрипционного фактора Nrf2, Nrf2-опосредованной Keap1-зависимой активации синтеза СОД, каталазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы, глутатион-S-трансферазы, гемоксигеназы, НАДФН-хиноноксидоредуктазы-1 и иных ферментов антиоксидантной защиты [15]. Кроме этого, Nrf2 подавляет активность NF- κ B и продукцию провоспалительных цитокинов за счет прямых белок-белковых взаимодействий при умеренном окислительном стрессе под воздействием озона. Данный эффект озона потенцируется ингибированием NLRP3 и ограничением синтеза IL-1 β и IL-18.

На фоне применения 5-АСК при ОИК отмечены противовоспалительные свойства: на 2-е, 4-е, 6-е сутки – снижение количества лейкоцитов в крови за счет нейтрофилов и моноцитов, концентрации в сыворотке С-РБ (табл. 2). Данные факты нашли отражение в морфологической картине: снижении TDI на 4-е и 6-е сутки наблюдения, уменьшении размера язвенного поражения на 2-е, 4-е, 6-е сутки, увеличении площади распределения сосудов в очаге повреждения на 4-е и 6-е сутки (табл. 1).

Таблица 1

Морфометрические данные в очаге повреждения толстого кишечника при ОИК (Ме (Q1; Q3))

| Показатели | Группа I Интактные (n=9) | Группа II ОИК | | | Группа III ОИК + ОКС ВБ | | | Группа IV ОИК + 5-АСК | | |
|---|-------------------------------------|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| | | 2-е сутки (n=7) | 4-е сутки (n=7) | 6-е сутки (n=7) | 2-е сутки (n=7) | 4-е сутки (n=7) | 6-е сутки (n=7) | 2-е сутки (n=7) | 4-е сутки (n=7) | 6-е сутки (n=7) |
| Площадь распределе ния сосудов, мкм ² | 12250,10 (10300,00; 14400,00) | 29700,10 (24800,00; 32300,00) * | 15650,10 (14500,00; 17800,00) * | 17600,10 (17400,00; 19500,00) * | 25450,10 (19600,00; 26700,00) * | 24450,10 (22200,00; 28800,00) * # | 18450,10 (15500,00; 23400,00) * | 28950,10 (28500,00; 30100,00) * | 26200,10 (23700,00; 28300,00) * # | 28800,10 (19200,00; 30800,00) * # |
| Диаметр язвенного дефекта, мкм | 0 | 629,97 (397,97; 726,95) * | 795,98 (691,97; 864,89) * | 792,97 (439,97; 876,78) * | 323,32 (274,97; 349,97) * # | 200,97 (187,97; 207,97) * # | 197,79 (190,97; 243,97) * # | 338,89 (184,33; 463,61) * # | 439,97 (381,25; 495,95) * # \$ | 184,21 (149,35; 194,97) * # |
| TDI, у.е. | 0 | 3,00 (2,00;3,00) * | 4,00 (3,00;4,00) * | 4,00 (4,00;5,00) * | 3,00 (3,00;4,00) * | 2,00 (2,00;3,00) * # | 2,00 (2,00;3,00) * # | 2,00 (2,00;3,00) * | 3,00 (2,00;3,00) * # | 1,00 (1,00;2,00) * # |

Примечание: * – статистически значимые (p<0,01) различия с группой интактных животных; # – с группой II; \$ – с группой III. ОИК – оксазолон-индуцированный колит. 5-АСК – 5-аминосалициловая кислота, TDI – индекс повреждения ткани.

Таблица 2

Влияние применения ОКС или 5-АСК на количественный состав лейкоцитов и СРБ в крови при ОИК (Ме (Q1; Q3))

| Показатели | Группа I Интактные (n=9) | Группа II ОИК | | | Группа III ОИК + ОКС ВБ | | | Группа IV ОИК + 5-АСК | | |
|---|--------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|----------------------------|
| | | 2-е сутки (n=7) | 4-е сутки (n=7) | 6-е сутки (n=7) | 2-е сутки (n=7) | 4-е сутки (n=7) | 6-е сутки (n=7) | 2-е сутки (n=7) | 4-е сутки (n=7) | 6-е сутки (n=7) |
| Лейкоциты, • 10 ⁹ /л | 5,23 (4,24;6,42) | 16,76 (14,04;19,28) * | 15,07 (13,87;15,66) * | 14,63 (13,36;15,41) * | 14,92 (11,84; 18,28) * | 6,97 (6,06; 7,91) € | 4,98 (4,42; 5,81) # € €€ | 8,37 (6,92;10,91) * # \$ | 4,82 (4,31;6,31) # \$ ¥ | 4,34 (3,71;4,87) # ¥ |
| Нейтрофилы, • 10 ⁹ /л | 1,57 (1,34;1,71) | 5,56 (2,63;6,63) * | 2,78 (1,99;3,54) * | 3,54 (1,93;5,14) * | 8,98 (7,68; 10,69) * # | 3,85 (3,25; 4,47) * € | 1,72 (1,21; 2,32) € €€ | 4,63 (2,52;8,19) * \$ | 1,74 (1,16;1,82) # \$ ¥ | 1,53 (1,12;2,14) # ¥ |
| Палочкоядерные нейтрофилы, • 10 ⁹ /л | 0,03 (0;0,05) | 0,33 (0,21;0,38) * | 0,01 (0;0,01) | 0,09 (1,93;5,14) | 0,06 (0,01; 0,12) # | 0,02 (0,02; 0,03) | 0,04 (0,03; 0,05) # | 0,08 (0;0,11) # | 0,03 (0;0,03) \$ | 0,04 (0;0,07) |

| | | | | | | | | | | |
|---|-------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|------------------------------|------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|
| Сегментоядерные нейтрофилы, • 10 ⁹ /л | 1,56 (1,34;1,65) | 5,26 (2,41;6,14) * | 2,77 (1,99;3,54) * | 3,44 (1,61;5,14) * | 8,92 (7,56; 10,51) * # | 3,87 (3,25; 4,47) * € | 1,75 (1,36; 2,29) € €€ | 4,58 (2,52;8,17) * \$ | 1,72 (1,16;1,82) # \$ ¥ | 1,52 (1,12;2,07) ¥ |
| Эозинофилы, • 10 ⁹ /л | 0,12 (0;0,12) | 0,03 (0;0,05) | 0,10 (0,05;0,12) | 0,23 (0,06;0,29) | 0,35 (0,12; 0,38) # | 0,13 (0,04; 0,23) | 0,04 (0; 0,13) € | 0,04 (0;0,11) \$ | 0,11 (0,06;0,17) | 0,09 (0;0,17) |
| Лимфоциты, • 10 ⁹ /л | 3,26 (2,32;4,48) | 10,47 (10,93;12,58) * | 11,83 (11,41;13,19) * | 10,28 (6,31;12,71) * | 4,92 (3,21; 6,21) # | 2,63 (2,21;3,05) € | 3,04 (2,11; 4,21) # | 3,39 (2,57;4,41) # | 2,72 (2,01;0,81) # | 2,48 (2,27;3,02) # |
| Моноциты, • 10 ⁹ /л | 0,28 (0,23;0,32) | 0,67 (0,47;0,81) * | 0,33 (0,14;0,41) | 0,56 (0,36;0,75) * | 0,57 (0,51; 0,61) * | 0,36 (0,31; 0,41) € | 0,17 (0,10; 0,21) * € €€ | 0,29 (0,21;0,36) # \$ | 0,24 (0,15;0,25) | 0,23 (0,17;0,25) # |
| СРБ, г/л | 95,07 (81,54;110,95) | 186,42 (154,88;189,26)* | 239,48 (192,62;267,26)* | 245,06 (136,27;271,71)* | 188,24 (145,49;198,68)* | 141,66 (128,65;200,78)* # | 112,77 (99,64;125,79)# € | 124,88 (110,46;149,54)# \$ | 98,93 (93,61;104,35)# \$ ¥ | 78,22 (72,21;85,17)# \$ ¥ ¥¥ |
| Примечание: * – статистически значимые (p<0,05) различия с группой интактных животных; # – с группой II; \$ – с группой III; € – с группой III на 2-е сутки, €€ – с группой 3-и на 4-е сутки, ¥ – с группой IV на 2-е сутки, ¥¥ – с группой IV на 4-е сутки. ОИК – оксазолон-индуцированный колит, 5-АСК – 5-аминосалициловая кислота, ОКС – озонкислородная смесь, ВБ – внутрибрюшинно, СРБ – с-реактивный белок. | | | | | | | | | | |

Противовоспалительный эффект при ОИК в условиях применения внутрибрюшинных инсуффляций ОКС по сравнению с применением ректальных суппозиториев с 5-АСК оказывает менее выраженный эффект на снижение выраженности морфологических признаков повреждения в толстой кишке, за исключением уменьшения площади распределения сосудов; системные признаки воспаления, включая количество в крови нейтрофилов, моноцитов, лимфоцитов, концентрацию С-РБ, уменьшаются более выражено при применении 5-АСК, а не озона.

Выводы

1. При ОИК в динамике 6-суточного наблюдения максимальная выраженность морфологических признаков повреждения в толстой кишке и концентрации С-РБ в сыворотке отмечается на 4-е и 6-е сутки и количество в крови нейтрофилов, моноцитов – на 2-е сутки.

2. При ОИК внутрибрюшинные инсуффляции озона в дозе 0,05 мг/кг ежедневно приводят на 4-е и 6-е сутки наблюдения к снижению морфологических признаков повреждения толстой кишки по показателю TDI, снижению концентрации С-РБ в сыворотке; на 2-е, 4-е, 6-е сутки – к снижению количества в крови лейкоцитов преимущественно за счет лимфоцитов.

3. Эффекты при ОИК внутрибрюшинных инсуффляций озона по сравнению с эффектами применения каждые 12 ч ректальных суппозиториев с 50 мг 5-АСК менее выражены в отношении морфологической картины по данным TDI, снижения концентрации С-РБ в сыворотке и количества лейкоцитов в крови на 2-е, 4-е, 6-е сутки; более выражены в отношении площади распределения сосудов на 2-е и 6-е сутки.

Список литературы

1. Alatab S., Sepanlou S.G., Ikuta K., Vahedi H., Bisignano C., Safiri S., Sadeghi A., Nixon M.R., Abdoli A., Abolhassani H. The global, regional, and national burden of inflammatory bowel disease in 195 countries and territories, 1990–2017: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet Gastroenterol. Hepatol.* 2020. no. 5. P. 17–30.
2. AGA Patient Information Section. Inflammatory Bowel Disease. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2017. no. 15. A 21.
3. Torres J., Mehandru S., Colombel J.F., Peyrin-Biroulet L. Crohn's disease. *Lancet* 2017. no. 389. P. 1741–1755.
4. Ungaro R., Mehandru S., Allen P.B., Peyrin-Biroulet L., Colombel J.F. Ulcerative colitis. *Lancet.* 2017. no. 389. P. 1756–1770.

5. Piovani D., Danese S., Peyrin-Biroulet L., Nikolopoulos G.K., Lytras T., Bonovas S. Environmental Risk Factors for Inflammatory Bowel Diseases: An Umbrella Review of Meta-analyses. *Gastroenterology*. 2019. no. 157. P. 647–659.
6. Neri J., Lomba E., Karam A.M., De Almeda Reis S.R., Teixeira Marchionni A., and Pexoto Meidrado A. Ozone therapy influence in the tissue repair process: a literature review. *J. Oral Diagn*. 2017. no. 2. P. 1–6.
7. Осиков М.В., Симонян Е.В., Бакеева А.Е., Огнева О.И. Антиоксидантный эффект экстракта куркумы в составе ректальных суппозиторий оригинального состава при экспериментальной болезни Крона // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2020. Т. 169. № 3. С. 314-319.
8. Осиков М.В., Симонян Е.В., Бойко М.С., Огнева О.И., Ильиных М.А., Воргова Л.В., Богомолова А.М. Влияние витамина D3 в составе оригинальных ректальных суппозиторий на показатели окислительной модификации белков в толстом кишечнике при экспериментальном язвенном колите // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2020. Т. 170. № 11. С. 563-568.
9. Осиков М.В., Симонян Е.В., Галеева И.Р. Лекарственная форма для лечения и профилактики язвенного колита, содержащая пэгилированную липосомальную форму эритропозтина в форме суппозиторий, обладающая противовоспалительным и иммуномодулирующим действием // Патент РФ № 2740060. Патентообладатель «ФГБОУ ВО ЮУГМУ». 2020. Бюл. № 2.
10. Kiesler P., Fuss I.J., Strober W. Experimental models of inflammatory bowel diseases. *Cell. Mol. Gastroenterol. Hepatol*. 2015. vol. 1. no 2. P. 154-170.
11. Yao J., Lu Y., Zhi M., Hu P., Wu W., Gao X. Dietary 3 polyunsaturated fatty acids ameliorate Crohn's disease in rats by modulating the expression of PPAR γ /NFAT. *Mol Med Rep*. 2017. vol. 16. no. 6. P. 8315-8322.
12. Hoving J.C., Keeton R., Höft M.A., Ozturk M., Otieno-Odhiambo P., Brombacher F. IL-4 Receptor-Alpha Signalling of Intestinal Epithelial Cells, Smooth Muscle Cells, and Macrophages Plays a Redundant Role in Oxazolone Colitis. *Mediators Inflamm*. 2020. DOI: 10.1155/2020/4361043.
13. Borrelli E., Bocci V.A. The Use of Ozone in Medicine. *Annals of Medical and Health Sciences Research*. 2018. no 8.
14. Cenci A., Macchia I., La Sorsa V., Sbarigia C., Di Donna V., Pietraforte D. Mechanisms of Action of Ozone Therapy in Emerging Viral Diseases: Immunomodulatory Effects and Therapeutic Advantages With Reference to SARS-CoV-2. *Front. Microbiol*. 2022. no. 13.

15. Galiè M., Covi V., Tabaracci G., Malatesta M. The Role of Nrf2 in the Antioxidant Cellular Response to Medical Ozone Exposure. *Int. J. Mol. Sci.* 2019. no. 16. P. 4009.