

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНЫХ ДОЗ ОЗОНА НА ОСНОВЕ ОЦЕНКИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА У ОБОЖЖЕННЫХ БОЛЬНЫХ

УДК 612.014.464:616–001.17–005.1

Поступила 20.09.2012 г.



О.В. Костина, к.б.н., старший научный сотрудник отделения экспериментальной медицины;

С.П. Перетягин, д.м.н., руководитель отделения экспериментальной медицины;

А.А. Стручков, к.м.н., старший научный сотрудник взрослого ожогового отделения

Нижегородский НИИ травматологии и ортопедии Минздрава России, Н. Новгород, 603155, Верхне-Волжская набережная, 18

Цель исследования — оценить характер влияния используемых в клинике доз озона на свертывание крови при лечении обожженных пациентов.

Материалы и методы. В контрольную группу вошли 34 практически здоровых человека. Группу сравнения составили больные, получавшие стандартную инфузионно-трансфузионную терапию, принятую в клинике термических поражений (n=58). В изучаемые группы вошли пациенты с ожоговой болезнью, которым на фоне традиционных методов лечения проводили курс озонотерапии: внутривенно озон в виде озонированного физиологического раствора с разовой дозой 40–80 мкг (n=10), 120–160 мкг (n=10), 200–250 мкг (n=13) и 500 мкг (n=16) по пять процедур. Исследовали состояние системы гемостаза: тромбиновое время, протромбиновое время, активированное частичное тромбопластиновое время, концентрация фибриногена, активность антитромбина III.

Заключение. У обожженных пациентов под влиянием озонотерапии и в зависимости от дозы озона наблюдаются в разной степени выраженные изменения в системе гемостаза. Наиболее оптимально на показатели свертывающей системы крови воздействует дозировка озона 120–160 мкг, способствующая снижению концентрации фибриногена и повышению активности антитромбина III.

Ключевые слова: ожоговая болезнь; система гемостаза; озонотерапия.

English

Determination of Optimal Ozone Doses On the Basis of the Assessment of Hemostasis System Parameters in Burned Patients

O.V. Kostina, PhD, Senior Research Worker, the Department of Experimental Medicine;

S.P. Peretyagin, D.Med.Sc., Professor, Head of the Department of Experimental Medicine;

A.A. Struchkov, PhD, Senior Research Worker, the Department of Adult Burn Injuries

Nizhny Novgorod Research Institute of Traumatology and Orthopedics, Ministry of Health of the Russian Federation, Verkhne-Volzhskaya naberezhnaya St., 18, Nizhny Novgorod, Russian Federation, 603155

The aim of the investigation was to assess the effect of clinical ozone doses on blood coagulation in the treatment of burned patients.

Materials and Methods. The control group had 34 of apparently healthy people. The comparison group consisted of patients receiving standard infusion-transfusion therapy used in clinic unit of thermal injuries (n=58). The study groups included the patients with burn disease, who underwent an ozone therapy course of five ozone procedures against the background of conventional treatment methods. They were injected a single dose of ozone intravenously in the form of ozonized saline solution: 40–80 µg (n=10), 120–160 µg (n=10), 200–250 µg (n=13), and 500 µg (n=16). The hemostatic system condition was studied by the following parameters: thrombin time, prothrombin time, activated partial thromboplastin time, fibrinogen concentration, antithrombin III activity.

Conclusion. The burned patients under the influence of ozone therapy and depending on ozone dose showed varying degrees of marked changes in the hemostatic system. The most optimal dosage affecting the blood coagulation system appeared to be the dose of 120–160 µg promoting the reduction of fibrinogen concentration and increased antithrombin III activity.

Key words: burn disease; hemostatic system; ozone therapy.

Современный анализ развития альтерационных сдвигов при термической травме включает рассмотрение нарушений системы гемостаза как одного из

первостепенных факторов патогенеза ожоговой болезни, отягчающего течение заболевания [1, 2]. Расстройство механизмов системы свертывания крови

Для контактов: Костина Ольга Владимировна, тел. раб. 8(831)436-25-31, тел. моб. +7 903-847-07-80; e-mail: olkosta@rambler.ru

при термической травме является классическим примером формирования в организме обожженных так называемого порочного круга, когда возникшее осложнение резкоотягощает течение основного заболевания за счет нарушения микроциркуляции, развития гипоксии и снижения функции важнейших внутренних органов. Так, в печени нарушается биосинтез не только биологически активных соединений, участвующих в различных метаболических процессах организма, но и тех, которые непосредственно связаны с реализацией механизмов гемокоагуляции, фибринолиза и действия эндогенных антикоагулянтов.

Анализ литературных данных показал, что между процессами свободно-радикального окисления и системой гемостаза существует тесная взаимосвязь [3, 4]. Известны дозозависимые эффекты озона относительно системы гемостаза, проявляющиеся как в гипокоагуляционном, так и в гиперкоагуляционном воздействии [5–8]. Эти факты имеют особую значимость при использовании озона в лечении ожоговой болезни, которая сопровождается изменениями со стороны системы гемостаза.

Кроме того, анализ литературы показал отсутствие информации, касающейся влияния различных концентраций озонированного физиологического раствора, вводимого парентерально, на систему гемостаза обожженных больных.

Цель исследования — оценить характер влияния используемых в клинике доз озона на свертывание крови при лечении обожженных пациентов.

Материалы и методы. Объектом исследования системы гемостаза служила цитратная кровь людей с площадью ожога от 15% и выше. В контрольную группу вошли 34 практически здоровых человека. Группу сравнения составили больные, получавшие стандартную инфузионно-трансфузионную терапию, принятую в клинике термических поражений (n=58). В изучаемые группы вошли пациенты, которым на фоне общепризнанных методов лечения проводили курс озонотерапии из пяти процедур. Озон вводили внутривенно в виде озонированного физиологического раствора с разовой дозой 40–80 мкг (n=10), 120–160 мкг (n=10), 200–250 мкг (n=13) и 500 мкг (n=16). Кровь для исследований забирали на 1–4-е сутки (после 1–2 процедур озонотерапии) и на 10–15-е сутки после травмы (в конце курса озонотерапии). У пациентов определяли следующие показатели: протромбиновое время свертывания плазмы крови, тромбиновое время, активированное частичное тромбoplastиновое время (АЧТВ), концентрацию фибриногена. О состоянии эндогенных антикоагулянтов судили по активности антитромбина III (АТ III).

Результаты и обсуждение. У всех пострадавших от термической травмы в группе сравнения отмечено повышение концентрации фибриногена относительно показателя нормы начиная уже с первых суток после травмы, в среднем на 14% (табл. 1). К 10–15-м суткам уровень фибриногена был выше на 71% по сравнению с показателем здоровых людей. Увеличение высокомолекулярного фибриногена повышает риск тромбообразования, вязкость крови. Известно, что фибриноген

чрезвычайно чувствителен к активным формам кислорода (АФК) [9]. После термической травмы на фоне увеличенной интенсивности свободно-радикальных процессов возрастает концентрация окисленного фибриногена [10]. Имеются данные о том, что окислительно модифицированный фибриноген в зависимости от его концентрации и степени окисленности может оказывать влияние на факторы свертывания крови, агрегацию тромбоцитов и эритроцитов [10–12].

Нами было установлено, что после 1–2 процедур озонотерапии не отмечается статистически значимых изменений уровня фибриногена по сравнению с аналогичным показателем у пациентов, которым озон не применялся. В то же время прослеживается тенденция к повышению концентрации данного белка в зависимости от увеличения дозы вводимого озона (см. табл. 1).

Исследование содержания фибриногена в группах после проведения озонотерапии показало, что оптимизирующе воздействовал на его уровень озон в дозе 120–160 мкг, при которой наблюдалось снижение показателя на 31% к концу курса лечения по сравнению с аналогичным параметром группы сравнения. Уменьшение концентрации фибриногена под действием озона может быть связано со стимуляцией тканевого активатора плазминогена окисленным фибриногеном [13]. Субстратами плазмина являются не только образующий сгусток фибрин, но и некоторые факторы свертывания крови, в том числе фибриноген. Таким образом, снижая концентрацию фибриногена, в том числе окисленного исходно и окисленного в результате прооксидантной терапии, озон в дозе 120–160 мкг способствовал уменьшению свертываемости крови, тем самым улучшению ее реологических свойств и, соответственно, улучшению кровоснабжения и трофики органов и тканей.

Таблица 1

Динамика содержания фибриногена под действием озона у обожженных пациентов, г/л (M±m)

Группы больных	1–4-е сутки после ожога (после 1–2 процедур озонотерапии)	10–15-е сутки после ожога (после курса озонотерапии)
Здоровые люди (контрольная группа)	2,80±0,11	
Группа сравнения	3,20±0,11	4,800±0,151*
40–80 мкг озона	2,90±0,17	4,40±0,43**
120–160 мкг озона	3,30±0,33	3,30±0,34 [#]
200–250 мкг озона	3,50±0,39	4,70±0,22 [^]
500 мкг озона	3,70±0,33	4,30±0,28

Примечания: * — p=0 относительно группы сравнения на 1–4-е сутки; ** — p<0,05 по сравнению с концентрацией фибриногена в начале лечения озоном в дозе 40–80 мкг; [#] — p<0,05 по сравнению с уровнем фибриногена на 10–15-е сутки с использованием озона в дозе 120 мкг; [^] — p<0,01 относительно группы сравнения на 10–15-е сутки; ^v — p<0,001 по сравнению с уровнем фибриногена на 10–15-е сутки с использованием озона в дозе 200 мкг; ^o — p<0,05 по сравнению с уровнем фибриногена на 10–15-е сутки с использованием озона в дозе 500 мкг; [^] — p<0,01 по сравнению с содержанием фибриногена в начале лечения озоном в дозе 500 мкг.

Озон в дозе 40–80 мкг не оказывал заметного влияния на содержание фибриногена. Как и в группе не леченных озоном пациентов, в процессе развития ожоговой болезни происходило дальнейшее возрастание содержания фибриногена (на 52%). Аналогичная динамика гиперфибриногенемии выявлялась при введении озона и в других дозах: в дозе 200–250 мкг содержание фибриногена увеличилось на 34%, а в дозе 500 мкг — на 16% по сравнению с уровнем на 1–4-е сутки после травмы (см. табл. 1).

Для оценки внешнего механизма плазменного гемостаза определяли значение протромбинового времени, которое характеризует активность протромбинового комплекса на этапах тромбинообразования. Выявлено, что в начале и в конце срока наблюдения среднее его значение во всех группах пациентов находилось в диапазоне референтных значений параметра (12,9–18,5 с).

Тромбиновое время, характеризующее скорость превращения фибриногена в фибрин, у всех обследованных больных незначительно варьирует от среднего арифметического значения у здоровых людей (15,2±0,15 с) в пределах диапазона нормы во все сроки наблюдения независимо от дозы озона. Исключение составляет тенденция к гипокоагуляции, выявленная при использовании физиологического раствора с дозой озона 120–160 мкг к концу курса озонотерапии: усредненное тромбиновое время удлинилось на 14%. Механизм такого влияния озона может быть связан с модифицирующим действием АФК на белки свертывающей системы крови. АФК, а также окисленный фибриноген могут не только выступать в роли факторов, активирующих гемостаз, но и оказывать ингибирующее действие на компоненты гемокоагуляционного каскада, имеющие фосфолипидную структуру и за счет этого легко поддающиеся окислению.

Активированное частичное тромбопластиновое время является пробой, чувствительной к плазменным дефектам свертывания, особенно к дефициту XII, XI, IX и VIII факторов, обеспечивающих внутренний механизм свертывания. Нами установлено, что АЧТВ у обожженных пациентов контрольной группы и всех пациентов, получавших озон, существенно не отличается от среднего арифметического значения показателя (39,90±0,61 с) и находится в пределах, близких к нормальным значениям параметра, во все сроки наблюдения.

Состояние системы защиты крови от прогрессирования гиперкоагуляции оценивали по активности антитромбина III, на долю которого приходится 75–80% всего антикоагулянтного потенциала крови. АТ III является ингибитором тромбина, факторов Ха, IXа, XIа, XIIа. Полученные данные свидетельствуют о снижении активности АТ III в результате термической травмы уже на 1–4-е сутки после травмы по сравнению с уровнем показателя практически здоровых людей (табл. 2), что согласуется со опубликованными в литературе данными [14]. В эти сроки внутривенное введение озона не оказало влияния на активность данного антикоагулянта.

После проведенной озонотерапии не выявлено значительных изменений в динамике активности АТ III при использовании озона в разовой дозе 40–80 мкг. У пациентов, получавших озон в дозе 120–160 мкг, отмечено значительное увеличение активности АТ III — на 32% по сравнению с уровнем показателя в начале курса лечения и на 21% по сравнению со значением параметра в группе сравнения на 10–15-е сутки с момента получения термической травмы. Более выраженное и статистически значимое повышение активности АТ III было зафиксировано при использовании озона в дозе 200–250 мкг в конце срока наблюдения (на 55% — по сравнению с уровнем изучаемого параметра после 1–2 процедур озонотерапии и на 44% — по сравнению со значением показателя у пациентов, которым озон не применялся). Такие изменения активности АТ III могут быть связаны с корригирующим влиянием озона на белковосинтезирующую функцию печени [15], где и синтезируется этот антикоагулянт. Поскольку АТ III является наиболее мощным ингибитором тромбина, трансформирующего фибриноген в фибриновые микротромбы, то увеличение активности АТ III, ведущее к снижению микротромбообразования, следует расценивать как важный терапевтический результат озонотерапии.

Менее выраженная активность АТ III при использовании озона в дозе 500 мкг может быть обусловлена тем, что увеличение количества АФК и гидроперекисей липидов при введении озона сопровождается усилением потребления АТ III. Это, в свою очередь, может способствовать развитию тромбоопасной ситуации.

На основании проведенного исследования можно заключить, что применение парентерального метода озонотерапии в лечении обожженных пациентов сопровождается изменениями в системе гемостаза, зависящими от концентрации озона в физиологическом растворе. Окислительное воздействие активных форм кислорода

Таблица 2

Влияние озона в различных дозах на активность АТ III в ранние сроки ожоговой болезни, % (M±m)

Группы больных	1–4-е сутки после ожога (после 1–2 процедур озонотерапии)	10–15-е сутки после ожога (после курса озонотерапии)
Здоровые люди	97,10±2,02	
Группа сравнения	68,90±1,69	74,60±2,05
40–80 мкг озона	71,70±4,13	77,70±8,23
120–160 мкг озона	71,50±8,11	94,50±2,63 ^{*v}
200–250 мкг озона	70,50±1,67	109,70±10,31 ^{#^}
500 мкг озона	71,70±4,63	82,10±3,18 [°]

Примечания: * — p<0,05 по сравнению с активностью АТ III в начале курса лечения озоном; + — p<0,05 относительно группы сравнения на 10–15-е сутки; v — p<0,05 по сравнению с активностью АТ III на 10–15-е сутки с использованием озона в дозе 500 мкг; # — p<0,01 по сравнению с активностью АТ III в начале курса лечения озоном; ^ — p<0,005 по сравнению с контролем на 10–15-е сутки; ° — p<0,01 по сравнению с активностью АТ III в начале курса лечения озоном.

приводит к сдвигам в функциональном состоянии этой системы и играет важную роль в адаптации организма, в частности в системе эндогенных антикоагулянтов крови. Назначение системной озонотерапии при ожоговой болезни должно учитывать степень выраженности нарушений в системе гемостаза.

Заключение. У обожженных пациентов под влиянием озона и в зависимости от его дозы наблюдаются в разной степени выраженные изменения в системе гемостаза. Наиболее оптимально на показатели свертывающей системы крови воздействует дозировка озона 120–160 мкг.

Литература

1. Преснякова М.В. Информационная значимость гемостазиологических нарушений при развитии «раннего» сепсиса у тяжелообожженных. *Экология человека* 2013; 3: 46–53.
2. Костина О.В., Перетягин С.П. Состояние тромбоцитарного звена системы гемостаза, про- и антиоксидантного потенциалов в динамике ожоговой болезни. *Клиническая лабораторная диагностика* 2011; 4: 33–35.
3. Byshevsky A.S., Rudzevich A.Y., Shapovalov P.Y., Sharovalova E.M., Shidin A.V., Sulkarnayeva G.A., Bagumyan E.V. The connection between lipid peroxidation and thrombin-fibrinogen interaction. *Фундаментальные исследования* 2009; 3: 4–6.
4. Бышевский А.Ш., Винокурова Е.А., Галян С.Л., Деметьева И.А., Забара Е.В., Зверева И.В. и др. Витамины, липидпероксидация и гемостаз. *Фундаментальные исследования* 2008; 3: 80–81.
5. Пиксин И.Н., Махров В.И., Махров В.В., Табунков С.И., Бякин С.П., Щербаков А.В., Романова Н.В., Аверина А.В. Изменения системы гемостаза у больных тромбофлебитом глубоких вен нижних конечностей при озонотерапии. *Соврем технол мед* 2011; 4: 173–176.
6. Розенфельд М.А., Леонова В.Б., Константинова М.Л., Разумовский С.Д. Самосборка мономерного фибрина и агрегация фибриногена при окислении озоном. *Биохимия* 2009; 74(1): 54–61.
7. Гулиева М.Г., Зейналова Э.И., Рафиев Ф.Д., Фигарова Н.А., Пашаева Ш.Б. Озонотерапия. *Oftalmologiya: Elmy-Praktik Jurnal* 2010; 2: 102–109.
8. Stadtman E.R., Levine R.L. Oxidation. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2000; 899: 191–208.
9. Levin G.Y., Egorihina M.N. The role of fibrinogen aggregation of platelets in burn injury. *Burns* 2010; 36(6): 806–810.
10. Пирязев А.П., Асейчев А.В., Азизова О.А. Влияние окислительно-модифицированного фибриногена на образование и лизис фибринового сгустка в плазме крови. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины* 2009; 148(12): 640–643.
11. Рагино Ю.И., Баум В.А., Полонская Я.В., Баум С.П., Никитин Ю.П. Окисленный фибриноген и его связь с нарушениями гемостаза и функции эндотелия при ишемической болезни сердца и инфаркте миокарда. *Кардиология* 2009; 9: 4–8.
12. Азизова О.А., Пирязев А.П., Асейчев А.В., Швачко А.Г. Окислительная модификация фибриногена замедляет его превращение в фибрин под влиянием тромбина. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины* 2009; 147(2): 160–163.
13. Stief T.W., Marx R., Heimburger N. Oxidized fibrin(ogen) derivatives enhance the activity of tissue type plasminogen activator. *Thromb Res* 1989; 56(2): 221–228.
14. Barret J.P., Dziewuski P.G. Complications of the hypercoagulable status in burn injury. *Burns* 2006; 32: 1005–1008.
15. Беляев А.Н., Беляев С.А., Костин С.В., Мельникова Д.В., Хвастунов С.И., Бухаркин А.В., Церковнов С.И. Патогенетическая коррекция нарушений гемостаза при остром обтурационном холестазах. *Медицинский альманах* 2010; 1(10): 136–140.

References

1. Presnyakova M.V. Informatsionnaya znachimost' gemostaziologicheskikh narusheniy pri razvitiy "rannego" sepsisa u tyazheloozhzhennykh [Information value of hemostasiological disorders in "early" sepsis development in severe burned patients]. *Ekologiya cheloveka — Human Ecology* 2013; 3: 46–53.
2. Kostina O.V., Peretyagin S.P. Sostoyanie trombotsitarnogo zvena sistemy gemostaza, pro- i antioksidantnogo potentsialov v dinamike ozhogovoy bolezni [The condition of platelet element of hemostatic system, pro- and antioxidant potentials in burn disease dynamics]. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika — Clinical Laboratory Diagnosis* 2011; 4: 33–35.
3. Byshevsky A.S., Rudzevich A.Y., Shapovalov P.Y., Sharovalova E.M., Shidin A.V., Sulkarnayeva G.A., Bagumyan E.V. The connection between lipid peroxidation and thrombin-fibrinogen interaction. *Fundamentalnie issledovaniya — Fundamental Researches* 2009; 3: 4–6.
4. Byshevskiy A.Sh., Vinokurova E.A., Galyan S.L., Dement'eva I.A., Zabara E.V., Zvereva I.V., et al. Vitaminy, lipidperoksidatsiya i gemostaz [Vitamins, lipid peroxidation and hemostasis]. *Fundamentalnie issledovaniya — Fundamental Researches* 2008; 3: 80–81.
5. Piksin I.N., Makhrov V.I., Makhrov V.V., Tabunkov S.I., Byakin S.P., Stcherbakov A.V., Romanova N.V., Averina A.V. Izmeneniya sistemy gemostaza u bol'nykh tromboflebitom glubokikh ven nizhnikh konechnostey pri ozonoterapii [The change of hemostasis system in patients with thrombophlebitis of lower extremities deep veins in ozone therapy]. *Sovrem Tehnol Med — Modern Technologies in Medicine* 2011; 4: 173–176.
6. Rozenfel'd M.A., Leonova V.B., Konstantinova M.L., Razumovskiy S.D. Samosborka monomernogo fibrina i agregatsiya fibrinogena pri okislenii ozonom [Self assembly of monomer fibrin and fibrinogen aggregation in ozone oxidation]. *Biokhimiya — Biochemistry* 2009; 74(1): 54–61.
7. Gulieva M.G., Zeynalova E.I., Rafiev F.D., Figarova N.A., Pashaeva Sh.B. *Ozonoterapiya* [Ozone therapy]. *Oftalmologiya: Elmy-Praktik Jurnal* 2010; 2: 102–109.
8. Stadtman E.R., Levine R.L. Oxidation. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2000; 899: 191–208.
9. Levin G.Y., Egorihina M.N. The role of fibrinogen aggregation of platelets in burn injury. *Burns* 2010; 36(6): 806–810.
10. Piryazev A.P., Aseychev A.V., Azizova O.A. Vliyanie oksislitel' nomodifitsirovannogo fibrinogena na obrazovanie i lizis fibrinovogo sgustka v plazme krovi [The effect of oxidative modified fibrinogen on the formation and lysis of fibrinous clot in blood plasma]. *Bull Eksp Biol Med — Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 2009; 148(12): 640–643.
11. Ragino Yu.L., Baum V.A., Polonskaya Ya.V., Baum S.R., Nikitin Yu.P. Okislennyy fibrinogen i ego svyaz' s narusheniyami gemostaza i funktsii endoteliya pri ishemicheskoy bolezni serdtsa i infarkte miokarda [Oxidized fibrinogen and its relationship with hemostasis disturbances and endothelial dysfunction during coronary heart disease and myocardial infarction]. *Kardiologiya — Cardiology* 2009; 9: 4–8.
12. Azizova O.A., Pirzyaev A.P., Aseychev A.V., Shvachko A.G. Okislitel'naya modifikatsiya fibrinogena zamedlyayet ego prevrashchenie v fibrin pod vliyaniem trombina [Oxidative fibrinogen modification inhibits its transformation into fibrin under thrombin action]. *Bull Eksp Biol Med — Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 2009; 147(2): 160–163.
13. Stief T.W., Marx R., Heimburger N. Oxidized fibrin(ogen) derivatives enhance the activity of tissue type plasminogen activator. *Thromb Res* 1989; 56(2): 221–228.
14. Barret J.P., Dziewuski P.G. Complications of the hypercoagulable status in burn injury. *Burns* 2006; 32: 1005–1008.
15. Beljaev A.N., Beljaev S.A., Kostin S.V., Melnikova D.V., Chvastunov S.I., Buharkin A.V., Tserkovnov S.I. Pathogenetic correction of the hemostasis disorders at the acute obstructive cholestasis. *Med Al'm — Medical Almanac* 2010; 1(10): 136–140.