

М.Ю. ЮРЬЕВА, Ю.С. ВИННИК, Е.Н. АНИСИМОВА, А.Б. САЛМИНА,  
О.В. ТЕПЛЯКОВА, Н.Г. ТРЕТЬЯКОВА

## ВЛИЯНИЕ СИСТЕМНОЙ ОЗОНОТЕРАПИИ НА УРОВЕНЬ ПРОДУКЦИИ ФАКТОРА ФОН ВИЛЛЕБРАНДА ПРИ ЛОКАЛЬНОЙ ХОЛОДОВОЙ ТРАВМЕ

ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет  
имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого»,  
Российская Федерация

**Цель.** Изучить влияние системной озонотерапии на содержание антигена фактора фон Виллебранда в плазме крови у пострадавших с локальной холодовой травмой.

**Материал и методы.** В исследование были включены 60 пациентов с локальной холодовой травмой II-IV степени в дореактивном и раннем реактивном периодах. Первую группу (n=20) составили пациенты с отморожением, получавшие стандартное базисное лечение. Пациентам второй группы (n=20) помимо стандартного лечения были назначены внутривенные инфузии озонированного физиологического раствора. В третью группу вошли пациенты (n=20), которым на фоне стандартного базисного лечения выполняли большую аутогемотерапию с озоном. Контрольную группу составили здоровые лица обоего пола в возрасте от 20 до 60 лет (n=20). Определение уровня антигена фактора фон Виллебранда (vWF) в плазме крови выполнено с помощью иммуноферментного анализа.

**Результаты.** Уровень антигена фактора фон Виллебранда в плазме крови здоровых лиц обоего пола в возрасте от 20 до 60 лет находился в пределах  $0,69 \pm 0,31$  IU/ml (ЕД/мл). У пациентов с локальной холодовой травмой при поступлении значение исследуемого маркера превышало показатели контрольной группы. На фоне проводимого базисного лечения (первая группа) на 10 сутки уровень анализируемого маркера значимо не изменился. При включении в комплексное лечение пациентов с локальной холодовой травмой системной озонотерапии отмечено значимое снижение содержания vWF в плазме крови ( $p < 0,0001$ ). Причем, у пациентов третьей группы, которым проводились сеансы большой аутогемотерапии с озоном уровень антигена фактора фон Виллебранда на 10 сутки был значимо ниже, чем у пациентов, получавших внутривенные инфузии озонированного физиологического раствора.

**Заключение.** Применение системной озонотерапии в комплексном лечении пациентов с локальной холодовой травмой способствует снижению уровня фактора антигена фон Виллебранда в плазме крови.

*Ключевые слова:* холодовая травма, отморожение, озонотерапия, фактор фон Виллебранда, эндотелиальная дисфункция

**Objectives.** To study the effect of the systemic ozone therapy on von Willebrand factor antigen content in the blood plasma in patients suffering from local cold injury.

**Methods.** Sixty patients with a local cold injury (II-IV stages) in the pre-reactive and early reactive period were enrolled in the study. The first group (n=20) included patients suffering from frostbite, receiving a standard basic treatment. The second group of patients (n=20) along with a basic treatment the intravenous infusions of the ozonated physiological saline solution has been added. The third group was composed of the patients (n=20) received a major ozonated autohemotherapy on the background of basic treatment. The control group consisted of healthy persons (20-60 yrs. old, males and females (n=20). To determine von Willebrand factor antigen level (vWf) in plasma an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) has been applied.

**Results.** The von Willebrand factor antigen level in blood plasma of healthy persons (20-60 yrs. old, males and females (n=20) was within  $0,69 \pm 0,31$  IU / ml. The study marker value in patients suffering from frostbite at hospitalization exceeded the same in the control group. On the 10<sup>th</sup> day the level of the analyzed marker didn't change significantly on the background of basic treatment (the 1<sup>st</sup> group). The significant reduction of the vWF was registered in patients receiving systemic ozone therapy on the background of basic treatment ( $p < 0,0001$ ). Besides, on the 10<sup>th</sup> day vWF level was significantly lower in patients of the third group receiving a major ozonated autohemotherapy than in patients treated with intravenous infusions of ozonated physiological saline solution.

**Conclusions.** The application of systemic ozone therapy in complex treatment of patients suffering from local cold injury contributes to reduction of von Willebrand factor antigen level in blood plasma.

*Keywords:* cold injury, frostbite, ozone therapy, von Willebrand factor, endothelial dysfunction

Novosti Khirurgii. 2014 May-Jun; Vol 22 (3): 351-355

The effect of system ozone therapy on the level of von Willebrand factor production in local cold injury

M.Y. Yurieva, Y.S. Vinnik, E.N. Anisimova, A.B. Salmina, O.V. Teplyakova, N.G. Tretyakova

### Введение

Проблема локальной холодовой травмы

сохраняет свою актуальность на территории России. В настоящее время отмечается тенденция к увеличению количества пациентов с

отморожением конечностей. Три четверти пострадавших от воздействия низких температур составляют мужчины трудоспособного возраста, что выводит эту проблему в ранг социально значимых [1]. Высокая частота неудовлетворительных результатов лечения (инвалидизации), большая продолжительность стационарного лечения и обусловленные ими значительные материальные затраты [2] во многом являются следствием недостаточной изученности молекулярных механизмов патогенеза отморожений, свидетельствуя о необходимости поиска новых методов патогенетически обоснованной терапии локальной холодовой травмы.

В настоящее время большое значение в патогенезе отморожения отводится нарушению функции эндотелия сосудов под действием низких температур и гипоксии [3]. Одним из наиболее изучаемых маркеров дисфункции эндотелия является фактор фон Виллебранда (vWF) [4]. Известно, что он представляет собой крупный многомерный гликопротеин, 85% которого синтезируется эндотелиальными клетками сосудов, 15% мегакариоцитами и тромбоцитами. Фактор Виллебранда, синтезируемый эндотелиоцитами, не только поступает в плазму крови, но и накапливается внутри эндотелиальных клеток в тельцах Weibel-Palade [5], откуда высвобождается после их стимуляции. Инициаторами такой быстрой секреции являются факторы гемостаза (тромбин, фибрин, плазмин, АДФ), воспаления (гистамин, компоненты комплемента: C5a и C5b-9, лейкотриены, супероксид-анионы, эндотоксин, интерлейкин-1, ФНО) и др. Одной из функций фактор Виллебранда является обеспечение адгезии тромбоцитов в месте повреждения эндотелия [6].

В ранее проведенных исследованиях было установлено, что у пациентов с локальной холодовой травмой отмечается повышение коллагенсвязывающей активности фактора фон Виллебранда по сравнению с группой контроля. В раннем реактивном периоде регистрируется увеличение vWF в 2,4 раза, однако пик коллагенсвязывающей активности приходился на поздний реактивный период [7].

В арсенале способов комплексного лечения пациентов с локальной холодовой травмой одним из наиболее перспективных представляется метод системной озонотерапии [8]. Известно, что медицинский озон в терапевтических концентрациях обладает рядом свойств, потенциально значимых при лечении отморожений: антигипоксическим, иммуномодулирующим, противовоспалительным, антиоксидантным, бактерицидным. Эффективность и безопасность этого метода лечения способствуют все более

широкому применению его в клинической практике [8, 9, 10]. Однако в доступной литературе нами не найдено сведений о применении системной озонотерапии в комплексном лечении пациентов с местной холодовой травмой.

**Цель работы.** Изучить влияние системной озонотерапии на уровень продукции антигена фактора фон Виллебранда плазмы крови у пациентов с локальной холодовой травмой.

## Материал и методы

В исследование были включены 60 пациентов с отморожениями конечностей II-IV степени в дореактивном и раннем реактивном периодах, находившихся на стационарном лечении на клинической базе кафедры общей хирургии в хирургическом отделении №2 МБУЗ «Городская клиническая больница №7» г. Красноярск за период 2010-2013 гг. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом Красноярского государственного медицинского университета им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого. При работе с пациентами были соблюдены требования, предусмотренные Хельсинской Декларацией Всемирной медицинской ассоциации.

Среди обследуемых были лица обоего пола (доля мужчин составила 88,3%, доля женщин — 11,7%), в возрасте от 20 до 60 лет (средний возраст  $43,4 \pm 2,2$  года).

Отморожение конечностей II степени наблюдалось у 19 пострадавших (31,7%), III — у 14 (23,3%), IV — у 27 (45,0%) пациентов.

Исследуемые были разделены на три группы. Первую составили 20 пациентов с локальной холодовой травмой, получавшие стандартное базисное лечение (однократное введение адсорбированного столбнячного анатоксина, инфузии дезагрегантов, антикоагулянтов, спазмолитиков, глюкозо-новокаиновой смеси, новокаиновые блокады, оперативное лечение по показаниям, перевязки).

Пациентам второй группы (n=20) наряду с базисным лечением были назначены внутривенные инфузии озонированного физиологического раствора (ОФР) в концентрации 2-4 мг/л в объеме 200 мл через день, в количестве 5-6 сеансов.

В третью группу вошли пациенты (n=20), которым на фоне стандартного базисного лечения выполняли большую аутогемотерапию с озоном. Для аутогемотерапии осуществляли забор 100 мл венозной крови пациента при помощи роторного перистальтического насоса «Исток-2» производства ООО НПП «Исток» (Воронеж) со скоростью 10 мл/мин в специ-

альный пластиковый контейнер производства НПП «Эконика» (Одесса), содержащий 50 мл изотонического раствора хлорида натрия и 5 ед. гепарина. После забора через дополнительный порт в контейнер вводили 100 мл озono-кислородной газовой смеси с концентрацией озона 10 мг/л. В течение пяти минут тщательно и аккуратно перемешивали содержимое контейнера, затем при помощи реверса насоса возвращали кровь в вену пациента. Дозировка однократно вводимого озона составила 1 мг. Сеансы проводили через день в общем количестве 5-6.

В качестве генератора медицинского озона использовали озонотерапевтическую установку УОТА-60-01 производства ООО «Медозон» (Москва). Выбор дозировки, способа и кратности введения озона осуществлялся в соответствии с рекомендациями, утвержденными Министерством здравоохранения РФ (2001), и декларацией Международной ассоциации озонотерапевтов (Мадрид, 2010).

У всех пострадавших с локальной холодовой травмой осуществляли двукратный забор венозной периферической крови (при поступлении в стационар и на 10-е сутки госпитализации). Для определения среднефизиологических значений продукции vWF дополнительно обследовали 20 условно здоровых лиц обоего пола, в том числе двух женщин (10,0%) и 18 мужчин (90,0%) в возрасте от 20-60 лет (контрольная группа).

Пациенты клинических и контрольной групп были сопоставимы по полу, возрасту, тяжести и характеру травмы.

Определение содержания антигена фактора фон Виллебранда (vWF) в цитратной плазме крови выполнено методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием набора реактивов производства ЗАО «БиоХимМак» (г. Москва), согласно стандартному протоколу фирмы-производителя на базе кафедры клинико-лабораторной диагностики ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого». Процесс анализа включал в себя следующие этапы: инкубация с образцами и конъюгантом, промывка, реакция с субстратом, остановка реакции и измерение. Для проведения иммуноферментного анализа был использован комплект оборудования:

Фотометр для микропланшета IMark ООО «BIO RAD», Япония,

Шейкер медицинский ST 3L (ELMI), Латвия, Рига,

Устройство для промывки микропланшет (вошер) PW 40 ООО «Био-РАД лаборатория», Франция.

Статистическая обработка результатов

проводилась в программе SPSS-19.0. При использовании параметрических методов анализа предварительно определялось соответствие выборки закону нормального распределения с учетом теста Колмогорова-Смирнова с поправкой Лилиефорса. Количественные данные представлены как среднее арифметическое  $\pm$  стандартное отклонение ( $M \pm m$ ). Достоверность различий между группами оценивали с помощью многофакторного дисперсионного анализа (ANOVA). При выявлении различий между исследуемыми группами, для уточнения их характера применялся апостериорный критерий множественных сравнений Геймса-Хоуэлла. Различия считали значимыми при  $p < 0,05$ .

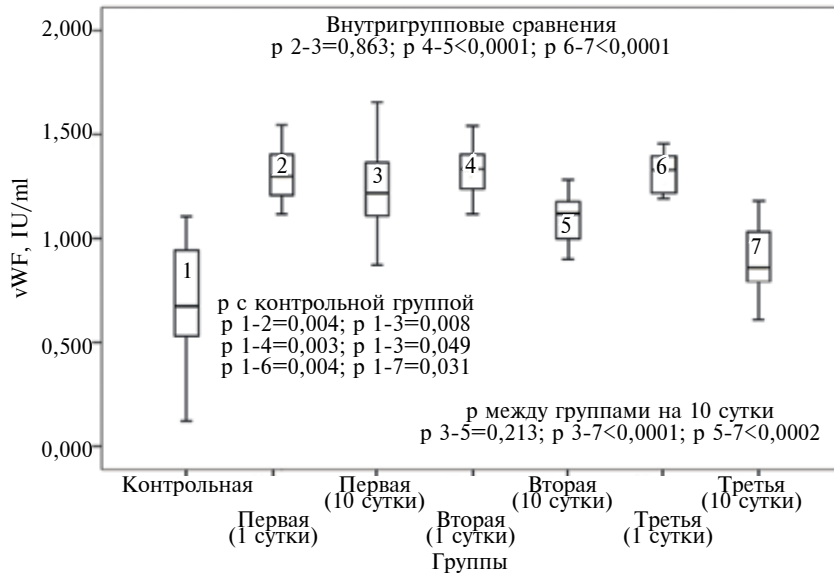
## Результаты

При анализе полученных результатов установлено, что уровень антигена фактора фон Виллебранда в плазме крови здоровых лиц обоего пола в возрасте от 20 до 60 лет находится в пределах  $0,69 \pm 0,31$  ЕД/мл (рис).

У пациентов с локальной холодовой травмой при поступлении в раннем реактивном периоде значение исследуемого маркера превышало показатели контрольной группы, составляя  $1,28 \pm 0,12$  ЕД/мл ( $p=0,004$ ). На фоне проводимого базисного лечения (первая группа) на 10 сутки уровень анализируемого маркера значимо не изменился ( $1,17 \pm 0,17$  ЕД/мл,  $p=0,863$ ). При включении в комплексное лечение пациентов с локальной холодовой травмой системной озонотерапии отмечено значимое снижение содержания vWF в плазме крови ( $p < 0,0001$ ). Причем, у пациентов третьей группы, которым проводились сеансы большой аутогемотерапии с озоном уровень антигена фактора фон Виллебранда на 10 сутки был значимо ниже ( $0,88 \pm 0,17$ ), чем у пациентов, получавших внутривенные инфузии озонированного физиологического раствора ( $1,08 \pm 0,11$ ,  $p=0,002$ ). Несмотря на существенное снижение продукции фактора фон Виллебранда у пациентов второй и третьей групп, к 10 суткам его содержание превышало контрольные показатели ( $p_{1-5}=0,049$ ;  $p_{1-7}=0,031$ ).

## Обсуждение

Полученные результаты подтверждают сведения литературы о патогенетическом значении высокого содержания фактора фон Виллебранда в раннем реактивном периоде локальной холодовой травмы [7]. Вместе с тем, нами не обнаружено пикового увеличения содержания vWF на фоне проведения консервативного лечения в позднем реактивном периоде отторжения.



**Рис. Динамика уровня продукции фактора фон Виллебранда у пациентов с локальной холодовой травмой на фоне стандартного базисного лечения и применения системной озонотерапии**

Анализ результатов свидетельствует, что традиционная терапия способствовала незначительному снижению продукции фактора фон Виллебранда. Существенное уменьшение содержания исследуемого маркера дисфункции эндотелия во второй и третьей группах по всей видимости можно объяснить тем, что медицинский озон в терапевтических концентрациях оказывает действие на уровне триггеров быстрой секреции фактора фон Виллебранда, благодаря противовоспалительному действию и активации фибринолитического звена системы гемостаза [9, 10]. Таким образом, системная озонотерапия оказывает корригирующее действие на эндотелиальную дисфункцию как на ключевое звено патогенеза локальной холодовой травмы.

Значимые различия между показателями второй и третьей групп, достигнутые к 10 суткам стационарного лечения, подтверждают современные представления о методе аутогемотерапии с озоном как наиболее безопасном в плане учета дозы введенного вещества и наиболее эффективном с позиции преимуществ технологии его направленного транспорта [8, 9, 10].

### Заключение

Применение системной озонотерапии в комплексном лечении пациентов с локальной холодовой травмой способствует снижению содержания антигена фактора фон Виллебранда в плазме крови, при этом наиболее значимому — под влиянием методики аутогемотерапии с озоном.

**Конфликт интересов отсутствует**

### ЛИТЕРАТУРА

1. Лобан Е. К. Хирургическая тактика лечения отморожений / Е. К. Лобан, Д. Е. Лобан // *Новости хирургии*. — 2010. — Т. 18, № 1. — С. 141–44.
2. Кожно-пластические операции у больных с отморожениями конечностей / В. К. Гостищев [и др.] // *Рус. мед. журн.* — 2009. — Т. 17, № 25. — С. 1639–41.
3. Эндотелиальная секреция вазоактивных молекул при холодовой травме конечностей / К. Г. Шаповалов [и др.] // *Травматология и ортопедия России*. — 2008. — Т. 48, № 2. — С. 53–56.
4. Состояние эндотелия и агрегационная активность тромбоцитов в остром и раннем восстановительном периодах ишемического инсульта / Е. Г. Смертина [и др.] // *Сиб. мед. обозрение*. — 2008. — Т. 52, № 4. — С. 56–59.
5. Assembly of multimeric von Willebrand factor directs sorting of P-selectin / C. Hop [et al.] // *Thromb Vasc Biol.* — 2000 Jul. — Vol. 20, N 7. — P. 1763–68.
6. Резяпова Н. Х. Фактор фон Виллебранда и толщина комплекса интима-медиа сонных артерий у больных артериальной гипертензией / Н. Х. Резяпова, Н. Н.Крюков, Г. И. Киселева // *Каз. мед. журн.* — 2010. — Т. 91, № 4. — С. 442–44.
7. Шаповалов К. Г. Коллагенсвязывающая активность фактора Виллебранда и агрегация тромбоцитов у пострадавших с отморожениями / К. Г. Шаповалов, Ю. А. Витковский // *Воен.-мед. журн.* — 2010. — Т. 331, № 12. — С. 18–22.
8. Bocci V. A. Ozone acting on human blood yields a hormetic dose-response relationship / V. A. Bocci, I. Zanardi, V. Travagli // *J Transl Med.* — 2011 May 17. — Vol. 9. — P. 66–76.
9. Алехина С. П. Озонотерапия: клинические и экспериментальные аспекты. Озонотерапия: клинические и экспериментальные аспекты / С. П. Алехина, Т. Г. Щербатюк. — Н. Новгород : Литера, 2003. — 240 с.

10. Di Paolo N. Extracorporeal blood oxygenation and ozonation: clinical and biological implications of ozone therapy / N. Di Paolo, E. Gaggiotti, F. Galli // Redox Rep. – 2005. – Vol. 10, № 3. – P. 121–30.

**Адрес для корреспонденции**

660022, Российская Федерация,  
г. Красноярск, ул. П. Железняк, д. 1,  
ГБОУ ВПО «Красноярский государственный  
медицинский университет  
имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого»,  
кафедра общей хирургии,  
тел. моб.: +7 913 532-84-86,  
e-mail: yuvinnik@yandex.ru,  
Винник Юрий Семенович

**Сведения об авторах**

Юрьева М.Ю., аспирант кафедры общей хирургии ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого».

Винник Ю.С., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой общей хирургии ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого».

Анисимова Е.Н., д.м.н., профессор, заведующая кафедрой клинично-лабораторной диагностики ИПО ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого».

Салмина А.Б., д.м.н., профессор, руководитель НИИ молекулярной медицины и патобиохимии ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого».

Теплякова О.В., к.м.н., доцент кафедры общей хирургии ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого».

Третьякова Н.Г., студентка 6 курса лечебного факультета ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого».

*Поступила 10.02.2014 г.*

---

---

**УВАЖАЕМЫЕ КОЛЛЕГИ!**

**21-22 ноября 2014 г. в г. Познань (Республика Польша)  
состоится симпозиум «ДИСКУССИИ В ХИРУРГИИ – ПРАКТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ»**

Симпозиум будет посвящен дискуссиям в хирургии. Известные специалисты в области хирургии и смежных отраслях обсудят на 6 секциях проблемы диагностики и лечения пациентов в конкретных клинических ситуациях. На каждой секции предусмотрена возможность дискуссии и активного участия.

**Организаторы:**

Кафедра и клиника общей хирургии, эндокринной хирургии и абдоминальной онкохирургии медицинского университета им. К. Марцинковского в Познани и издательство «Termedia».

Дополнительная информация на сайте: <http://www.termedia.pl>