

С.Ю. Каратєєва

Буковинський державний медичний
університет, м. ЧернівціВПЛИВ ОЗОНОТЕРАПІЇ НА СИСТЕМУ
РЕГУЛЯЦІЇ АГРЕГАТНОГО СТАНУ КРОВІ
В СТАРИХ ЩУРІВ З АЛОКСАНОВИМ
ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ ТА ГНІЙНО-
СЕПТИЧНИМИ УСКЛАДНЕННЯМИ

Ключові слова: цукровий діабет,
гнійно-септичні ускладнення,
гемостаз, фібриноліз, озонотерапія.

Резюме. Показано, що підшкірне введення калової суспензії старим щурам збільшує адгезивну здатність тромбоцитів і знижує інтенсивність Хагеманзалежного фібринолізу на тлі підвищення активності антиплазмінів. У старих щурів із цукровим діабетом і гнійно-септичними ускладненнями хронометрична гіпокоагуляція за внутрішнім шляхом згортання крові поєднується з хронометричною гіперкоагуляцією за зовнішнім механізмом тромбіногенезу та пригніченням фібриногенезу на тлі гіпофібриногенемії і внутрішньосудинного згортання крові, про що свідчить поява в крові досить великих концентрацій розчинних комплексів фібрин-мономеру, зниження активності антитромбіну III і фібрин-стабілізувального фактора та надмірна активація тромбоцитарної ланки первинного гемостазу. Озонотерапія в старих щурів із цукровим діабетом і гнійно-септичними ускладненнями збільшує інтенсивність тромбіногенезу за внутрішнім шляхом гемокоагуляції, активує механізми зовнішнього шляху згортання крові і підвищує інтенсивність фібриногенезу на тлі нормалізації вмісту в крові фібриногену. Відновлення нормальної активності антитромбіну III і XIII фактора на тлі зменшення функціональної активності тромбоцитів свідчать про припинення процесів внутрішньосудинного згортання крові під впливом озонотерапії. Інтенсифікація Хагеман-залежного фібринолізу є адекватною реакцією на активацію механізмів внутрішнього шляху згортання крові, що супроводжується підвищенням потенційної активності плазміногену при відсутності надмірної активації антиплазмінів.

Вступ

Увага до медичного застосування озону зумовлена унікальністю його біологічної активності: окрім бактерицидної і антимікробної дії [6,12] озон стимулює неспецифічну резистентність організму [1], виявляє позитивний вплив на клітинний і гуморальний імунітет [15], сприяє загоєнню ран [13], запобігає процесам надмірного фіброзогенезу та злукоутворенню [5], є ефективним в комбустіології [10,14]. Нещодавно з'явилися повідомлення про ефективність використання озонотерапії в комплексному лікуванні діабетичної стопи [9].

Водночас, далеко не всі аспекти біологічної дії озону є позитивними [16]. Зокрема, якщо гемостатичні ОЗ-ефекти при кровотечах [7] безумовно слід розцінювати як клінічно корисний вплив озону, то подібні зміни згортання крові при захворюваннях внутрішніх органів є скоріше негативними, особливо при цукровому діабеті у хворих літнього віку, коли порушення гемостазу і фібринолізу

поєднуються з мікро- і макроангіопатіями та гнійно-септичними ускладненнями. Даний аспект проблеми клінічного застосування озону вивчений недостатньо.

Мета роботи

З'ясувати вплив озонотерапії на систему регуляції агрегатного стану крові в старих щурах з цукровим діабетом і гнійно-септичними ускладненнями.

Матеріал і методи

Цукровий діабет моделювали шляхом підшкірного введення алоксану в дозі 100 мг на кг маси тіла. Тваринам контрольної групи взамін алоксану вводили підшкірно стерильний розчин 0,9%-го натрію хлориду. На 14-у добу після введення алоксану, тваринам підшкірно вводили 10%-у калову суспензію (пул калу від 20 тварин у 0,9% розчині натрію хлориду) в дозі 0,5 мл на 100 г маси

тіла. Щури першої дослідної групи отримували лише підшкірне введення калової суспензії. Тваринам другої групи калову суміш вводили підшкірно і надалі впродовж трьох діб один раз на день внутрішньочеревно вводили не озонований 0,9%-ий розчин натрію хлориду (1,0 мл на 100 г маси тіла тварини). Озонацію стерильного 0,9% розчину натрію хлориду проводили на апараті "Бозон" до концентрації озону в ізотонічному розчині натрію хлориду 20 мкг/мл. Через 10 хв. після озонації розчин ізотонічного натрію хлориду вводили внутрішньочеревищу щурам третьої дослідної групи з розрахунку 1,0 мл на 100 г маси тіла тварини 1 раз на добу впродовж 3 діб. Через 3 доби під ефірним наркозом виконували лапаротомію. Забір крові здійснювали силіконовим шприцом із черевної аорти (стабілізатор - 3,8%-ий розчин натрію цитрату).

Стан тромбоцитарно-судинного гемостазу оцінювали за відсотком адгезивних тромбоцитів [11], а також за індексом спонтанної агрегації тромбоцитів [17]. Загальний коагуляційний потенціал крові (час рекальцифікації плазми, протромбіновий і тромбіновий час, активований парціальний тромбoplastиновий час), Хагеман-залежний фібриноліз, потенційну активність плазміногену, антиплазміни, рівень фібриногену в плазмі крові, активність антитромбіну III, концентрацію розчинних комплексів фібрин-мономера в крові визначали за допомогою наборів реактивів фірми "Simko Ltd." (Україна).

При дослідженні активності антитромбіну III розведену цитратну плазму інкубували зі стандартною кількістю тромбіну з активністю

10 NIH/мл (частина тромбіну при цьому з'єднується з антитромбіном III), потім за часом згортання фібриногену визначали залишкову активність тромбіну. До 0,2 мл робочого розчину тромбіну додавали 0,1 мл пробі (розведеної в 20 разів плазми). Суміш інкубували впродовж 2-х хв. при температурі 37°C. Потім пробірку витягали з водяної бані, інтенсивно струшували її декілька разів для ретракції утвореного згортка. Швидко відбирали 0,2 мл суміші, додаючи її до 0,3 мл розчину фібриногену (прогрітого впродовж 1 хв. при температурі 37°C) і одночасно вмикаючи секундомір. Пробірку струшували на фоні світла матової панелі термостата "ТПС-8", фіксували час утворення фібринового згортка. За калібрувальною кривою визначали активність антитромбіну III.

При дослідженні концентрації фібриногену в плазмі крові до розбавленої цитратної плазми додавали розчин тромбіну і відмічали час утворення фібринового згортка. При надлишку тромбіну

час утворення згортка залежить від концентрації фібриногену, яку визначали за калібрувальною кривою. Розведену (1:9) цитратну плазму в об'ємі 0,2 мл прогрівали протягом 1 хв. у водяному термостаті, після чого додавали 0,2 мл розчину тромбіну (активність - 10 NIH/мл) та негайно вмикали секундомір. Відмічали час утворення ниток фібрину (невеликого згортка) при періодичному струшуванні пробірки. Час утворення згортка фіксували на фоні панельної підсвітки термостата "ТПС-8".

Для визначення активності фактора XIII фіксували час розчинення згортка плазми в щавлевокислій сечовині після інкубації плазми з моноіодоцтовою кислотою, яка блокує активацію фактора XIII. Час розчинення згортка залежить від вихідної активності фактора Лакі-Лорана в досліджуваній плазмі. До 0,1 мм досліджуваної цитратної плазми додавали 0,1 мл розчину моноіодоцтової кислоти та 0,2 мл 0,025 М розчину хлористого кальцію. Змішували вміст пробірки струшуванням і залишали при кімнатній температурі на 20 хв. До утвореного згортка додавали 1 мл розчину кислоти щавлевокислої сечовини. Пробірку легко струшували (приблизно 1 раз за секунду) і визначали час повного розчинення згортка фібрину. Так само визначали час розчинення фібринових згортків пулу плазми крові інтактних тварин. Активність фактора XIII в досліджуваній плазмі визначали за формулою: $A/B \times 100\%$, де А - час лізису згортка досліджуваної плазми; В - середній час лізису згортка пулу плазми крові інтактних щурів.

Визначення Хагеман-залежного фібринолізу проводили за спроможністю активованого коаліном фактора XII перетворювати плазміноген у плазмін. У поліетиленову пробірку, що містить 0,25 мл плазми, додавали 4 мл робочого ацетатного буфера, одразу вносили 0,25 мл суспензії коаліну, перемішували і поміщали у водяний термостат при температурі 37°C. Контактну активацію фактора XII з утворенням фактора XIIа, що необхідно для перетворення плазміногену в плазмін, проводили протягом 45 хв. при періодичному помішуванні вмісту дерев'яною паличкою. За цей час відбувається перетворення плазміногену в плазмін за допомогою фактора XIIа та кофакторів "контактної" активації. Потім пробі центрифугували протягом 10 хв. при 2000 об/хв. Надосадну рідину зливали, пробірки обертали на фільтрувальний папір для повного видалення рідини. Еуглобуліновий згорткок ресуспензували в 0,25 мл боратного буферного розчину, додавали 0,25 мл розчину хлориду кальцію і пробірку з сумішшю негайно ставили у водяну баню при темпе-

ратурі 37°C. Інтервал від часу утворення згортка до його повного розчинення є часом Хагеман-залежного фібринолізу, який виражали у хв.

При визначенні потенційної активності плазміногену визначали час лізису еуглобулінового згортка плазми крові при додатковій стимуляції фібринолітичного процесу стрептокіназою. До 4 мл охолодженого робочого ацетатного буферного розчину (рН 5,2), розлитого в пластикові пробірки Gilson, додавали 0,25 мл досліджуваної плазми. Суміш обережно змішували обертанням пробірки, інкубували 10 хв. при температурі 4°C і центрифугували 10 хв. при 2000 об/хв. Надосадну рідину зливали, пробірку обертали на фільтрувальний папір і видаляли рідину, що залишилася у пробірці. Осад розчиняли в 0,25 мл робочого боратного буферного розчину (рН 7,6), додавали 0,1 мл робочого розчину стрептокінази, 0,25 мл робочого розчину тромбіну (10 NIH) і пробірку із сумішшю негайно ставили у водяний термостат при температурі 37°C. Інтервал від часу утворення згортка до його повного розчинення є часом фібринолізу, який залежить від кількості плазміногену і відповідає його потенційній активності, що виражається у хв.

Визначення розчинних фібрин-мономерних комплексів у плазмі крові проводили за аналізом їх рецепторної взаємодії зі спеціальним штамом золотистого стафілокока, яку враховували візуально по аглютинації бактеріальних клітин. Плазму отримували з цитратної крові. Кров центрифугували при 1500 об/хв. протягом 7 хв., отримуючи в надосаді багату на тромбоцити плазму. До 0,1 мл плазми у скляній пробірці додавали 0,1 мл розчину тромбіну з активністю 10 NIH. Пробірку струшували та інкубували у водяному термостаті при температурі 37°C протягом 7 хв.

Визначення активності антиплазмінів проводили у два етапи. На першому етапі в пробірку вносили 0,18 мл розведеної плазми і 0,18 мл робочого розчину плазміну. Суміш витримували 1 год. при температурі 200С. На другому етапі визначали інгібіторну активність. У пронумеровані пробірки 1 (E1) і 2 (E2) вносили по 10 мг азофібрину, робочий буферний розчин (в першу - 0,70 мл; в другу - 0,85 мл). У першу пробірку додавали суміш "плазма крові-плазмін" в об'ємі 0,3 мл, у другу - 0,15 мл робочого розчину плазміну. Пробірки витримували 1 год. у водяному термостаті при температурі 37°C. Після інкубації в кожную пробірку вносили по 3 мл дистильованої води і вміст кожної пробірки фільтрували через фільтрувальний пристрій (за допомогою шприца). До отриманих розчинів після фільтрації додавали по 0,02 мл 5н NaOH. Оптичну густину розчинів визначали проти дистильованої води на фотомет-

ричному електроколориметрі "КФК-3" при довжині хвилі 440 нм (довжина оптичного шляху - 1 см). Активність антиплазмінів у плазмі вимірювали у відсотках гальмування активності плазміну і визначали за формулою: $(E1 - E2) : E1 \times 100\%$, де E1 і E2 - поглинання в першій та другій пробірках.

Дослідження часу рекальцифікації проводили в цитратній плазмі, отриманій після центрифугування крові протягом 5 хв. при 1500 об/хв. У пробірку, поміщену у водяну банку, вносили 0,2 мл буфера Міхаеліса з 0,025 М хлористим кальцієм. Через 1 хв. додавали 0,2 мл плазми і одразу вмикали секундомір. Пробірку періодично струшували і відмічали час утворення ниток фібрину (згортка).

Для визначення активованого парціального тромбопластинового часу фіксували час рекальцифікації безтромбоцитарної плазми після стандартизованої контактної (каоліном) та фосфоліпідної (кефаліном) активації згортання крові. У пробірку вносили 0,1 мл досліджуваної плазми та 0,1 мл каолін-кефалінової суміші (кефалін суспензували в 1 мл 0,15 М розчині натрію хлориду, 0,1 мл отриманої суспензії розводили суспензією каоліну у співвідношенні 1:9), перемішували та поміщали пробірку у водяний термостат при температурі 37°C. Через 5 хв. у пробірку додавали 0,1 мл попередньо прогрітого при температурі 37°C 0,025 М розчину кальцію хлориду, одночасно вмикали секундомір. Струшували пробірку та відмічали час утворення згортка.

Для визначення протромбінового часу в ступі розтирали 10 мг тромбопластину (Simko Ltd., Україна) в 1 мл дистильованої води і центрифугували 20 хв. при 2000 об/хв. У термостат з температурою 370С ставили 3 пробірки. У кожную пробірку вносили 0,1 мл буфера Міхаеліса з 0,025 М кальцієм хлоридом і 0,1 мл суспензії тромбопластину. Через 30 с у першу пробірку додавали 0,1 мл досліджуваної плазми і одночасно вмикали секундомір. Пробірку струшували до утворення згортка.

Для визначення тромбінового часу готували маточний розчин тромбіну з концентрацією 50 од. NIH/мл, для чого до вмісту флакона "Тромбін людини" (Simko Ltd., Україна) додавали 2 мл 0,15 М розчину натрію хлориду. З маточного розчину готували робочий розчин з активністю 10 од. NIH/мл розчину (тобто маточний розчин змішували з 0,15 М натрієм хлоридом у співвідношенні 1:4). Тестували активність робочого розчину тромбіну за плазмою інтактних щурів. Робочий розчин тромбіну мав активність 15-18 с. Плазму (0,2 мл) прогрівали протягом 1 хв. у

водяному термостаті при температурі 37°C після чого до неї додавали 0,2 мл робочого розчину тромбіну, одразу включали секундомір і відмічали час утворення згортка при періодичному струшуванні пробірки.

Статистичну обробку отриманих результатів виконували за програмою "BioStat" з визначенням t-критерію Ст'юдента.

Обговорення результатів дослідження

Результати дослідження наведені у таблиці. У щурів першої дослідної групи при розтині абсцеси і флегмони в черевній порожнині не виявлялись. У 30% тварин у зоні введення калової суспензії відмічалася гнійне запалення. Зміни у системі регуляції агрегатного стану крові торкалися тромбоцитарної ланки первинного гемостазу: різко зростав відсоток адгезивних тромбоцитів, проте індекс спонтанної агрегації тромбоцитів вірогідних змін не зазнавав. Водночас спостерігалось деяке пригнічення Хагеман-залежного фібринолізу і підвищення активності антиплазмінів. Решта показників, що характеризують гемостаз і фібриноліз, не відрізнялася від контрольних величин. Отже, підшкірне введення калової суспензії старим щурам без цукрового діабету збільшує адгезивну здатність тромбоцитів і знижує інтенсивність Хагеман-залежного фібринолізу, що може бути пов'язано з підвищенням активності антиплазмінів.

У тварин другої дослідної групи гнійно-септичні ускладнення, в тому числі множинні абсцеси і флегмони, локалізовані в органах грудної і черевної порожнини, спостерігались у 100% випадків. Смертність у даній групі тварин досягала 40%. У щурів, які вижили, час рекальцифікації відносно контролю подовжувався на 34,7%, однак активований парціальний тромбoplastиновий час вірогідно від контрольних показників не відрізнявся, хоча і мав тенденцію до збільшення та перевищував його у щурів першої групи на 38,3%. Протромбіновий час скорочувався на 27,7%, тоді як тромбіновий час збільшувався на 23,2%. Концентрація фібриногену в плазмі крові зменшувалася на 46,6%. На 26,3% знижувалася активність антитромбіну III. У крові з'являлися відсутні в контролі розчинні комплекси фібрин-мономеру. Активність XIII фактора зменшувалася на 17,6%. Спостерігалось суттєве підвищення функціональної активності тромбоцитів: відсоток адгезивних тромбоцитів зростав в 11 разів, а індекс їх спонтанної агрегації перевищував контрольні величини в 1,6 раза. Інтенсивність Хагеман-залежного лізису фібрину відповідала контролю, однак збільшувалася відносно такої у тварин першої дослідної

групи на 36,1%. Водночас спостерігалось зменшення потенційної активності плазміногену на 41,5% на тлі збільшення активності антиплазмінів на 28,6%.

У старих щурів з цукровим діабетом підшкірне введення калової суспензії викликає складні зміни гемостазу: хронометрична гіпокоагуляція за внутрішнім шляхом згортання крові поєднується з хронометричною гіперкоагуляцією за зовнішнім механізмом тромбіногенезу та пригніченням фібриногенезу на тлі гіпофібриногенемії. Така ситуація пояснюється розвитком внутрішньосудинного згортання крові, про що свідчить поява в крові досить великих концентрацій розчинних комплексів фібрин-мономеру при одночасному зниженні активності антитромбіну III і фібринстабілізуючого фактору [2]. Значне підвищення відсотку адгезивних тромбоцитів та індексу їх спонтанної агрегації дозволяє припустити, що інтраваскулярне фібриноутворення провоковане надмірною активацією тромбоцитарної ланки первинного гемостазу. Відсутність при цьому вірогідних змін Хагеман-залежного фібринолізу може бути пов'язане зі зменшенням потенційної активності плазміногену на тлі підвищення активності антиплазмінів [4].

У 20% щурів третьої групи на розтині в черевній порожнині виявлялися поодинокі абсцеси. Смертність серед тварин даної групи становила 10%. Відносно показників у другій групі щурів час рекальцифікації зменшувався на 31,6% і не відрізнявся від контролю. Проте активований парціальний тромбoplastиновий час скорочувався вдвічі і був на 36,2% меншим, ніж у тварин контрольної групи. Протромбіновий час зменшувався в 1,6 раза і був у 2,2 раза нижчим за контроль. Тромбіновий час скорочувався на 38,7% і також був меншим за контрольні показники - на 24,4%. Концентрація в крові фібриногену збільшувалася на 65,9% і відповідала такій у щурів контрольної групи, так само, як і активність антитромбіну III, яка порівняно з даними у тварин другої групи підвищувалася на 33,9%. Вміст у плазмі крові розчинних комплексів фібрин-мономеру не змінювався. Водночас активність XIII фактора зростала на 27,9% і не відрізнялася від контрольних величин. У 3,5 раза знижувався відсоток адгезивних тромбоцитів, однак цей показник залишався втричі вищим за контроль. Індекс спонтанної агрегації тромбоцитів вірогідних змін не зазнавав і був в 1,4 раза більшим, ніж у контролі. Інтенсивність Хагеман-залежного лізису фібрину підвищувалася на 28,9% і була в 1,4 раза більшою за таку ж у тварин контрольної групи. Майже у 3 рази зростала потенційна активність плазміногену,

Таблиця

Вплив озонотерапії на систему регуляції агрегатного стану крові в старих щурів з алоксановим цукровим діабетом та гнійно-септичними ускладненнями ($\bar{x} \pm Sx$)

Показники, що вивчалися	Контроль (інтактні щури) n=8	Перша дослідна група n=10	Друга дослідна група n=8	Третя дослідна група n=9
Час рекальцифікації, с	77,04±4,94	77,50±4,12 p>0,9	103,80±4,27 p<0,01 p ₁ <0,001	70,98±4,31 p>0,3 p ₁ >0,3 p ₂ <0,001
Активований парціальний тромбопластиновий час, с	40,50±3,49	37,09±2,62 p>0,4	51,30±4,41 p>0,07 p ₁ <0,02	25,83±1,37 p<0,001 p ₁ <0,01 p ₂ <0,001
Протромбіновий час, с	22,82±2,14	23,56±1,74 p>0,7	16,49±0,91 p<0,02 p ₁ <0,01	10,53±0,64 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
Тромбіновий час, с	12,89±0,90	13,41±0,89 p>0,6	15,88±1,02 p<0,05 p ₁ >0,08	9,74±0,64 p<0,02 p ₁ <0,01 p ₂ <0,001
Фібриноген, г/л	3,84±0,22	3,79±0,19 p>0,8	2,05±0,07 p<0,001 p ₁ <0,001	3,40±0,17 p>0,1 p ₁ >0,1 p ₂ <0,001
Активність антитромбіну III, %	94,99±4,60	91,88±3,51 p>0,5	68,69±3,52 p<0,001 p ₁ <0,001	102,60±5,60 p>0,3 p ₁ >0,1 p ₂ <0,001
Розчинні комплекси фібрин-мономеру, мкг/л	<i>не визначається</i>	<i>не визначається</i>	6,52±0,66	5,61±0,68 p ₂ >0,4
Активність XIII фактора, %	89,29±4,33	88,10±3,03 p>0,8	71,70±5,30 p<0,05 p ₁ <0,02	99,58±6,38 p>0,2 p ₁ >0,1 p ₂ <0,01
Відсоток адгезивних тромбоцитів, %	4,74±0,73	23,64±1,69 p<0,01	51,78±2,79 p<0,001 p ₁ <0,001	14,83±0,78 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
Індекс спонтанної агрегації тромбоцитів, %	37,72±2,48	31,72±3,39 p>0,1	59,72±1,69 p<0,001 p ₁ <0,001	51,90±3,25 p<0,01 p ₁ <0,001 p ₂ >0,05
Хагеманзалежний фібриноліз, хв.	12,66±0,93	15,66±0,72 p<0,05	10,00±0,90 p>0,05 p ₁ <0,001	7,11±0,79 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,05
Потенційна активність плазіногену, хв.	15,55±1,45	15,71±1,20 p>0,9	22,01±1,53 p<0,01 p ₁ <0,01	7,94±0,55 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
Активність антиплазмінів, %	84,90±4,65	103,80±4,55 p<0,02	113,50±7,29 p<0,01 p ₁ >0,2	121,80±4,99 p<0,001 p ₁ <0,02 p ₂ >0,3

Примітки: p - ступінь вірогідності різниць показників відносно контролю; p₁ - ступінь вірогідності різниць показників відносно таких у першій групі тварин; p₂ - ступінь вірогідності різниць показників відносно таких у другій групі тварин; n - число спостережень.

яка вдвічі перевищувала контрольні показники. Активність антиплазмінів залишалася високою - на 36,9% більшою, ніж у щурів контрольної групи.

Отже, озонотерапія в старих щурів із цукровим діабетом і гнійно-септичними ускладненнями збільшує інтенсивність тромбіногенезу за внутрішнім шляхом гемокоагуляції, активує механізми зовнішнього шляху згортання крові і підвищує інтенсивність фібриногенезу на тлі нормалізації вмісту в крові фібриногену. Загалом зміни процесів регуляції агрегатного стану крові, індуковані озоном, на рівні вторинного гемостазу слід розцінювати як хронометричну гіперкоагуляцію. Не дивлячись на збереження сталого рівня в крові розчинних комплексів фібрин-мономеру, відновлення нормальної активності антитромбіну III і XIII фактора на тлі зменшення функціональної активності тромбоцитів дозволяють дійти висновку про припинення процесів внутрішньосудинного згортання крові під впливом озонотерапії [3]. Інтенсифікацію Хагеман-залежного фібринолізу слід розцінювати як адекватну реакцію на активацію механізмів внутрішнього шляху згортання крові, тим більше, що вона супроводжується підвищенням потенційної активності плазміногену при відсутності надмірної активації антиплазмінів [8].

Висновки

1. Підшкірне введення калової суспензії старим щурам без цукрового діабету збільшує адгезивну здатність тромбоцитів і знижує інтенсивність Хагеман-залежного фібринолізу на тлі підвищення активності антиплазмінів.

2. У старих щурів із цукровим діабетом і гнійно-септичними ускладненнями хронометрична гіпокоагуляція за внутрішнім шляхом згортання крові поєднується з хронометричною гіперкоагуляцією за зовнішнім механізмом тромбіногенезу та пригніченням фібриногенезу на тлі гіпофібриногенемії і внутрішньосудинного згортання крові, про що свідчить поява в крові досить великих концентрацій розчинних комплексів фібрин-мономеру, зниження активності антитромбіну III і фібринстабілізуючого фактору та надмірна активація тромбоцитарної ланки первинного гемостазу.

3. Озонотерапія у старих щурів з цукровим діабетом і гнійно-септичними ускладненнями збільшує інтенсивність тромбіногенезу за внутрішнім шляхом гемокоагуляції, активує механізми зовнішнього шляху згортання крові і підвищує інтенсивність фібриногенезу на тлі нормалізації вмісту в крові фібриногену. Відновлення нормаль-

ної активності антитромбіну III і XIII фактора на тлі зменшення функціональної активності тромбоцитів свідчить про припинення процесів внутрішньосудинного згортання крові під впливом озонотерапії. Інтенсифікація Хагеман-залежного фібринолізу є адекватною реакцією на активацію механізмів внутрішнього шляху згортання крові, що супроводжується підвищенням потенційної активності плазміногену при відсутності надмірної активації антиплазмінів.

Перспективи подальших досліджень

Буде продовження вивчення в експерименті згортальної та протизгортальної систем гемостазу у тварин з експериментальним цукровим діабетом, ускладненим септичним станом.

Література. 1. Абдраштова Н.Ф., Балаян Ю.В., Романов Ю.А. Влияние длительного воздействия озона на функциональную активность фагоцитов человека // Бюл. эксперим. биол. и мед. - 2000. - Т. 130, № 9. - С.333-335. 2. Балуда В.П. Физиология системы гемостаза. - М.: Медицина, 1995. - 293 с. 3. Бокарев И.Н. ДВС-синдром, современные представления // Клини. мед. - 1992. - Том 70, № 2. - С.109-113. 4. Братчик А.М. Клинические проблемы фибринолиза. - К.: Здоров'я, 1993. - 433 с. 5. Верхулецкий И.Е., Вороной А.Л., Верхулецкий Е.И. и др. Значение озона в профилактике спайкообразования в брюшной полости // Врач. практика. - 2005. - № 3. - С.48-51. 6. Винник Ю.С., Перьянова О.В., Якимов С.В. и др. Применение озонированного физиологического раствора в комплексном лечении гнойных осложнений острого панкреатита // Анналы хирургич. гепатол. - 2002. - Т. 7, № 1. - С.59-62. 7. Кашиперский Ю.П., Адамян А.А., Макаров В.А. и др. Изучение кровоостанавливающих свойств газообразного озона // Бюл. эксперим. биол. и мед. - 1995. - Т. 125, № 7. - С.62-65. 8. Козинец Г.И., Макарова В.А. Исследование системы крови в клинической практике. - М.: Изд-во Триада-Х, 1997. - 480 с. 9. Лебезев В.М., Крылов М.Д. Применение озонотерапии в комплексном лечении гнойно-некротических заболеваний нижних конечностей у больных сахарным диабетом // Анналы хирургии. - 2000. - № 5. - С.59-62. 10. Макценко В.В. Возможности применения методов озонотерапии в хирургии и комбустиологии // Вестн. неотложн. и восстановит. мед. - 2002. - Т. 3, № 3. - С.57-59. 11. Мищенко В.П., Крохмаль Н.В., Надутый К.А. Простой метод определения адгезивно-агрегационных свойств тромбоцитов // Физиол. ж. - 1980. - Т. 26, № 2. - С.282-283. 12. Мушинов А.И., Хушвакова Н.Ж. Применение озонотерапии у больных с хроническим гнойным фронтитом // Вестник оториноларингологии. - 2002. - № 6. - С.46. 13. Назаров Е.А., Папков В.Г., Фокин И.А. Комбинированное воздействие лазерного излучения и озона на заживление гнойной раны в эксперименте и клинике // Вестн. травматол. и ортопед. им. Н.Н. Приорова. - 2000. - № 2. - С.55-58. 14. Чеглаков Е.В., Солошенко В.В., Носенко В.М., Михайличенко В.Ю. Экспериментальное изучение влияния озонированного раствора на течение раневого процесса при глубоких ожогах // Вестник неотложн. и восстановит. мед. - 2004. - Т. 5, № 4. - С.731-733. 15. Шамсиев А.М., Атакулов Д.О., Юсупов Ш.А. и др. Озонотерапия в профилактике и лечении послеоперационных абсцессов брюшной полости у детей // Дет. хирургия. - 2001. - № 2. - С.10-12. 16. Шульгай О.М., Шульгай А.Г. Доцільність застосування озонотерапії в клінічній практиці // Вісник наукових досліджень. - 2001. - № 2. - С.63-67. 17. Taccola A., Gotti G.B., Baruffini A., Cipolli P.L. Su un metodo di determinazione quantitativa della aggregabilità plastrinica spontanea // Rass. Med. Sper. - 1980. - Vol. 27, № 12. - P.795-804.

**ВЛИЯНИЕ ОЗОНОТЕРАПИИ НА СИСТЕМУ
РЕГУЛЯЦИИ АГРЕГАТНОГО СОСТОЯНИЯ КРОВИ
У СТАРЫХ КРЫС С АЛОКСАНОВЫМ САХАРНЫМ
ДИАБЕТОМ И ГНОЙНО-СЕПТИЧЕСКИМИ
ОСЛОЖНЕНИЯМИ**

С.Ю. Каратеева

Резюме. Показано, что подкожное введение каловой суспензии старым крысам без сахарного диабета увеличивает адгезивную способность тромбоцитов и снижает интенсивность Хагеман-зависимого фибринолиза на почве повышения активности антиплазминов. У старых крыс с сахарным диабетом и гнойно-септическими осложнениями хронометрическая гипокоагуляция по внутреннему пути свёртывания крови объединяется с хронометрической гиперкоагуляцией по внешнему механизму тромбогенеза и угнетением фибриногенеза на почве гипофибриногемии и внутрисосудистого свёртывания крови, о чём свидетельствует появление в крови достаточно высоких концентраций растворимых комплексов фибринмономера, снижение активности антитромбина III и фибринстабилизирующего фактора и избыточная активация тромбоцитарного звена первичного гемостаза. Озонотерапия у старых крыс с сахарным диабетом и гнойно-септическими осложнениями увеличивает интенсивность тромбогенеза по внутреннему пути гемокоагуляции, активизирует механизмы внешнего пути сворачивания крови и повышает интенсивность фибриногенеза на почве нормализации содержания в крови фибриногена. Возобновление нормальной активности антитромбина III и XII фактора на почве уменьшения функциональной активности тромбоцитов свидетельствуют о приостановлении процессов внутрисосудистого свёртывания крови под воздействием озонотерапии. Интенсификация Хагеман-зависимого фибринолиза является адекватной реакцией на активацию механизмов внутреннего пути свёртывания крови, что сопровождается повышением потенциальной активности плазминогена при отсутствии избыточной активности антиплазминов.

Ключевые слова: сахарный диабет, гнойно-септические осложнения, гемостаз, фибринолиз, озонотерапия

**OZONOTHERAPY INFLUENCE ON THE BLOOD
AGGREGATION STATE REGULATION SYSTEM IN
OLD RATS WITH ALOXANE INDUCED DIABETES
MELLITUS AND SEPTICO-PURULENT
COMPLICATIONS.**

S.Y. Karateeva

Abstract. It has been shown, that subcutaneous injection of fecal suspension to the old rats without diabetes mellitus increases adhesive abilities of blood plates and decreases intensity of Hagemanndependent fibrinolysis on the background of antiplasmin activation. In old rats with diabetes mellitus and septicopurulent complications chronometric hypocoagulation under the internal pathway of blood coagulation coexists with chronometric hypercoagulation under the external mechanism of thrombinogenesis and fibrinogenesis depression on the background of hypofibrinogenemia and intravascular coagulation, the evidence of this is the appearance in the blood in rather high concentration soluble complexes of fibrinmonomer, depression of antithrombin III and fibrinstabilising factor activity and excessive activation of blood plates link of primary hemostasis. Ozonotherapy in old rats with diabetes mellitus and septicopurulent complications increases intensity of thrombinogenesis under internal pathway of hemocoagulation, activates mechanisms of external pathway of blood coagulation and increases fibrinogenesis intensity on the background of fibfingen blood concentration normalization. Restoration of antithrombin III and IX factor normal activity on the background of reduction of blood plates Junctional activity testifies to abortion of the processes of intravascular blood coagulation under the influence of ozonotherapy. Intensity of Hagemanndependent fibrinolysis is an adequate reaction on the internal coagulation pathway activation, wich is accompanied by increase of potential plasminogen activity with the absence of excessive antiplasmins activation.

Key words: diabetes mellitus, septicopurulent complications, hemostasis, fibrinolysis, ozonotherapy

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Clin. and experim. pathol. - 2006. - Vol.5, №2. -P.33-39.

Надійшла до редакції 16.05.2006