

Dariusz Białoszewski 1, Michał Kowalewski 2

1 Klinika Ortopedii i Rehabilitacji, II Wydział Lekarski, Akademia Medyczna, Warszawa
Kierownik Kliniki: Prof. dr hab. med. A. Dziak

2 Katedra i Klinika Ortopedii i Traumatologii Narządu Ruchu, Akademia Medyczna, Warszawa
Kierownik Katedry i Kliniki: Prof. dr hab. med. A. Górecki

Przydatność miejscowych, głębokich insuflacji mieszaniną ozonowo-tlenową w profilaktyce i leczeniu zakażeń w obrębie narządów ruchu

The clinical efficacy of the local, deep insufflation of an oxygen-ozone mixture in the prevention and treatment of infections in the locomotor system

Słowa kluczowe: ozonoterapia, narządy ruchu, zakażenie
Key words: ozone therapy, locomotor system, infection

Streszczenie

Wstęp. Ozonoterapia coraz częściej znajduje miejsce we współczesnej medycynie jako metoda wspomagająca leczenie podstawowe. Przydatna jest zwłaszcza tam, gdzie leczenie rutynowe nie daje zadowalających wyników. Z uwagi na znane, zabójcze dla drobnoustrojów chorobotwórczych działanie ozonu postanowiono zbadać przydatność leczenia ozonem w zdeklarowanych stanach zapalnych tkanek miękkich i kości oraz możliwości profilaktycznego stosowania mieszaniny ozonowo- tlenowej w pourazowych stanach groźących głębokim zakażeniem tkanek.

Materiał i metody. Badania prowadzono w Akademii Medycznej w Warszawie: w Klinice Ortopedii i Rehabilitacji II Wydziału Lekarskiego i w Katedrze i Klinice Ortopedii i Traumatologii Narządu Ruchu. Dla celów badawczych opracowano technikę głębokiego podawania ozonu do przestrzeni międzytkankowych ran pooperacyjnych.

Od stycznia 2000 roku do września 2001 roku leczono tą techniką dwie grupy chorych: pacjentów pourazowych zagrożonych pierwotną infekcją (np. ze złamaniami otwartymi, ale bez ubytku powłok) oraz chorych ze zdeklarowanymi zakażeniami w obrębie narządów ruchu po planowym leczeniu rekonstrukcyjnym. W grupie pierwszej leczono 31 chorych, w grupie drugiej poddano leczeniu 18 pacjentów.

Wyniki. W pierwszej grupie u trzech chorych stwierdzono, pomimo prowadzonego skojarzonego leczenia, powikłania ropne, w tym tylko jeden przypadek zapalenia kości. W grupie drugiej u wszystkich chorych doszło do znacznie szybszego niż zwykle zagojenia rany i zatrzymania procesów septycznych. W dwóch przypadkach proces ropny uległ wznowie po 6 i 9 miesiącach. Pozostają one nadal w leczeniu.

Wnioski. Głębokie stosowanie mieszaniny ozonowo-tlenowej zmniejsza ryzyko pourazowych zagrożeń infekcyjnych oraz optymalizuje leczenie powikłań pooperacyjnych w postaci przewlekłych stanów septycznych. Metoda obniża koszty leczenia, skracając okres koniecznej antybiotykoterapii i czas pobytu pacjenta w szpitalu. Niekiedy staje się również jedynym sposobem wspomagającym zabiegi chirurgiczne, zwłaszcza w przypadkach zakażeń wieloopornymi szczepami bakteryjnymi.

Wstęp

Poszukiwanie nowych (inżynieria genetyczna) lub rozwijanie starych (np. leczenie bakteriofagami), zarzuconych w dobie euforycznej antybiotykoterapii, metod walki z zakażeniami staje się ostatnio palącą koniecznością. Wynika to z narastającej lawinowo oporności lekowej drobnoustrojów nierównoważonej równie szybkim rozwojem nowych leków przeciwbakteryjnych. Żłudny okazał się bowiem lansowany do niedawna pogląd, że rozwój antybiotyków będzie wyprzedzał mutacje drobnoustrojów. Coraz dotkliwiej i częściej zaczynamy odczuwać bezradność w walce ze szpitalnymi zakażeniami. W wielu krajach pojawiają się głosy, że narastająca lekkooporność drobnoustrojów jest już problemem globalnym [1].

Jedną z metod, która znalazła się ostatnio ponownie w kręgu zainteresowań klinicystów jest ozonoterapia. W tej metodzie leczniczej wykorzystuje się, stwierdzone w 1873 roku przez Foxa, zabójcze dla drobnoustrojów tlenowych i beztlenowych działanie ozonu [2,3]. Zainteresowanie ozonoterapią, poza wymienionym jej zasadniczym działaniem, zostało spowodowane również kilkoma innymi przyczynami. Najważniejsze z nich, to:

- pojawienie się dostatecznej liczby wiarygodnych prac doświadczalnych i klinicznych udowadniających nietoksyczność i niekancerogenność ozonu podawanego drogą inną niż oddechowa [4,5,6,7,8,9,10],
- ustalenie bezpiecznych dla zdrowia stężeń ozonu w powietrzu [8,9],
- dostęp do nowoczesnej aparatury (znacznie skuteczniejszej, całkowicie bezpiecznej dla użytkownika i pacjenta, ułatwiającej dokładne aplikacje leczniczych stężeń mieszaniny ozonowo- tlenowej),
- niestwierdzone do chwili obecnej, pomimo wielu badań, zjawisko nabywania przez chorobotwórcze drobnoustroje odporności na ozon [11,12,13,14].

Za przydatnością stosowania ozonoterapii przemawia również to, że jej działaniu bakterio-, grzybo- i wirusobójczemu [15,16,17,18,19] towarzyszy szereg innych dobroczynnych biologicznych oddziaływań, takich jak:

1. poprawianie utlenowania tkanek poprzez:
 - zwiększanie metabolizmu erytrocytu,
 - zwiększanie oddawania tlenu przez hemoglobinę,
 - zwiększanie transbłonowego przepływu tlenu,
 - zmniejszanie agregacji płytek krwi (20, 21,22,23).
2. powodowanie wzrostu ogólnej i miejscowej odporności poprzez stymulowanie układu immunologicznego [24,25,26].
3. wywieranie korzystnego wpływu w procesach zapalnych poprzez:
 - stymulację powstawania eozynofili,
 - hamowanie migracji komórek tłuszcznych,
 - hamowanie uwalniania enzymów lizosomalnych oraz niektórych białek ostrej fazy,
 - stymulację mitochondrialnego łańcucha oddechowego [20,27,28,29,30].

Leczenie ozonem, jako leczenie wspomagające, ma szerokie zastosowanie w rozmaitych schorzeniach i urazach narządów ruchu. Najczęściej znajduje swoje miejsce w skojarzonym leczeniu (pod pojęciem leczenia skojarzonego rozumiemy leczenie tradycyjne wspomagane terapią ozonem):

- przewlekłych zakażeń tkanek miękkich i kości o różnej etiologii,
- ubytków tkanek miękkich i skóry – szczególnie ułatwia przygotowanie podłoża dla przeszczepów,

- przetok i trudno gojących się ran (w tym również takich schorzeń interdyscyplinarnych, jak zespół stopy cukrzycowej i owrzodzenia troficzne podudzi),
 - niedokrwiennych stanów pourazowych, szczególnie z towarzyszącymi uszkodzeniami tkanek miękkich np. typu zmaglowania,
 - zagrażających zakażeń pourazowych i pooperacyjnych [31,32,33,34,35,36,37,38,39].
- Stosując metodę ozonoterapii w skojarzonym leczeniu pacjentów z urazami i schorzeniami narządu ruchu uzyskano bardzo zachęcające wyniki prezentowane we wcześniejszej publikacji [39]. Na podstawie nabytych doświadczeń postanowiono szerzej niż dotychczas wykorzystać mieszaninę ozonowo-tlenową do profilaktyki i leczenia zagrażających oraz istniejących głębokich zakażeń kości i tkanek miękkich. Celowość takiego stosowania ozonu wynika z tego, że ozon w postaci gazowej, w odpowiednio wysokich stężeniach, jest znacznie bardziej aktywny bakteriobójczo niż wymieszany z płynami [6,7, 9,13,22]. Spełnienie opisanych założeń wymagało opracowania techniki podawania mieszaniny ozonowo-tlenowej do ran pooperacyjnych.

Nowa technika podawania mieszaniny ozonowo-tlenowej

Podczas wcześniejszych prób stosowania wielodniowego drenażu przepływowego z zastosowaniem płynów ozonowanych wystąpiły, związane z tym typem leczenia, znane powszechnie problemy dotyczące: dyskomfortu pacjenta, utrzymania sprawności hydraulicznej systemu drenów oraz zapewnienia jałowości przepływu płynów. Trudności te oraz wspomniana wyższa aktywność ozonu w postaci gazowej spowodowały poszukiwanie optymalnego, łatwego w obsłudze i zapewniającego jałowość oraz powtarzalność dawek terapeutycznych, sposobu podawania mieszaniny ozonowo-tlenowej do przestrzeni międzykankowych w ranach pooperacyjnych. Pierwszoplanowe znaczenie miało również to, by opracowana technika była bezpieczna i nieuciążliwa dla chorych, zwłaszcza by nie „przywiązywała” ich do łóżka, tak jak w przypadkach stosowania drenaży przepływowych.

Po wielu doświadczeniach przedstawiamy oryginalnie opracowaną technikę:

- dren do podawania mieszaniny ozonowo-tlenowej musi być umieszczony w miejscu największych zmian patologicznych (zanieczyszczeń), najlepiej w bezpośrednim sąsiedztwie standardowego drenażu ssącego. Powinien być umieszczony zawsze w górnym (w stosunku do ułożenia pooperacyjnego pacjenta) biegunie drenowanej przestrzeni, tak by zminimalizować ryzyko zwrotnego wypełnienia się drenu wydzieliną z rany,
- podawanie ozonu należy rozpocząć najwcześniej w 2 dobie po zabiegu, chyba że odbiór z drenu ssącego w pierwszej dobie jest minimalny,
- w zależności od warunków miejscowych i stanu tkanek miękkich oraz techniki zamykania rany (konieczna konsultacja z lekarzem operującym) zalecane jest jednorazowe podawanie od 100 do 500 ml gazu. Przed przekroczeniem maksymalnej pojemności insuflowanej przestrzeni ostrzega zwykle zgłaszane przez pacjenta narastające odczucie rozpierania śródtkankowego. Należy tu podkreślić, że u chorych z ciężkimi, pourazowymi uszkodzeniami tkanek oraz wielokrotnie miejscowo operowanych odczucia rozpierania są zgłaszane ze znacznym opóźnieniem, ma to bezpośredni związek z uszkodzeniami lokalnego unerwienia. U pacjentów tych należy stosować bezpieczne (100- 200 ml./ dawkę) objętości. Nie przestrzeganie tego zalecenia może wiązać się z ciężkim powikłaniem jakim jest rozerwanie rany pooperacyjnej.
- częstość podawania mieszaniny ozonowo- tlenowej: 1 do 3 razy na dobę, zależnie od stanu pacjenta,

- zalecane stężenie ozonu w podawanej mieszaninie ozonowo-tlenowej waha się, w zależności od stanu miejscowego i celu ozonoterapii, od 50 do 90 µg/ml,
- drenaż ssący winien być utrzymany do czasu zakończenia odbioru wydzielin z rany, minimum przez dwa dni od czasu rozpoczęcia ozonoterapii. Jest to związane ze zdolnością ozonu do rozpuszczania zalegających, zaczynających się organizować resztkowych krwiaków, które w normalnych warunkach nie są odsysane,
- podawanie mieszaniny ozonowo-tlenowej nie powinno być dłuższe niż 7-10 dni i musi odbywać się od 4-5 dnia w systemie zmniejszania stosowanych objętości mieszaniny ozonowo-tlenowej. Umożliwia to naturalne gojenie się rany pooperacyjnej (pacjenci z dobrym unerwieniem operowanej okolicy w kolejnych dniach ozonoterapii znacznie wcześniej niż w poprzednich zgłaszają uczucie rozpierania śródtkankowego).

Material i metoda

W Klinice Ortopedycznej II Wydziału Lekarskiego i w Katedrze i Klinice Ortopedii i Traumatologii Narządu Ruchu Akademii Medycznej w Warszawie od stycznia 2000 roku do września 2001 roku terapią z zastosowaniem opisanej wyżej techniki głębokiego podawania mieszaniny ozonowo-tlenowej objęto 49 chorych. Stosowano nowoczesny aparat do ozonoterapii ATO3 produkcji polskiej firmy Cryoflex.

Leczono dwie grupy chorych:

- pourazowych, zagrożonych pierwotną infekcją, u których istniała możliwość zamknięcia rany, np. ze złamaniami otwartymi, ale bez ubytków tkanek miękkich,
- ze zdeklarowanymi zakażeniami w obrębie narządów ruchu. W tej grupie były powikłania po leczeniu planowym, jak i powikłania septyczne po leczeniu urazów.

W grupie pierwszej leczono 31 chorych, zaś w grupie drugiej poddano leczeniu 18 pacjentów. Rozkład chorych w poszczególnych grupach podają Tabele 1 i 2.

Liczba chorych	Kobiety	Mężczyźni
31	16	15

Tab. 1. Grupa pacjentów pourazowych (Grupa I)

Tab. 1. Post-traumatic patients (Group I)

Liczba chorych	Kobiety	Mężczyźni
18	7	11

Tab. 2. Grupa pacjentów ze schorzeniami przewlekłymi (Grupa II)

Tab. 2. Patients with chronic disorders (Group II)

Urazy i schorzenia obejmowały różne odcinki narządów ruchu, jednak najwięcej patologii w leczonej grupie pacjentów zlokalizowanych było w obrębie kończyny dolnej (Tab. 3).

Ramię i staw łokciowy	Przedramię	Udo ze stawem biodrowym	Podudzie ze stawem kolanowym	Okolica stawu skokowego i stopy

4	2	19	23	1
---	---	----	----	---

Tab. 3. Urazy i schorzenia pod względem ich umiejscowienia

Tab. 3. Injuries and disorders grouped by location

Patologie objęte wielodniowym, głębokim podawaniem mieszaniny ozonowo- tlenowej to:

- w grupie I
 - złamania otwarte – 22
 - złamania z zamkniętym zmiążdżeniem tkanek miękkich – 9
- w grupie II
 - infekcje po planowym leczeniu operacyjnym – 11

(w tym po alloplastykach stawów – 6)

- przewlekłe zakażenia pourazowe – 7.

Wyniki

W pierwszej grupie pacjentów poddanych skojarzonemu leczeniu (leczenie chirurgiczne + tradycyjna antybiotykoterapia + miejscowa, głęboka ozonoterapia) uzyskano w 28 przypadkach pierwotne wygojenie uszkodzonych tkanek. U trzech chorych stwierdzono powikłania ropne. W dwóch przypadkach dotyczyło ono powierzchownego zapalenia tkanek miękkich

i ustąpiło po ozonoterapii powierzchniowej (kąpiele ozonowo- tlenowe i opatrunki z oliwki ozonowanej). W jednym przypadku (szczególnie zabrudzone pierwotnie końce odłamów kości udowej z rozległym zanieczyszczeniem jamy szpikowej odłamu proksymalnego) po 4 miesiącach od pierwotnego wygojenia wystąpiło pourazowe zapalenie kości. Pacjent ten pozostaje nadal w leczeniu. Wyniki leczenia przedstawia Tabela 4.

Liczba chorych	Wygojenie powikłań	bez Powierzchnowe zapalenie tkanek miękkich	Pourazowe zapalenie kości
31	28	2	1

Tab. 4. Wyniki leczenia w grupie I

Tab. 4. Treatment outcomes in Group I

W grupie drugiej u wszystkich chorych doszło do zagojenia rany pooperacyjnej bez powikłań i zatrzymania objawów procesu zapalnego. U dwóch pacjentów doszło do ponownego pojawienia się objawów septycznych w 6 i 9 miesiącu obserwacji, w tym tylko u jednego pacjenta z grupy po alloplastykach stawowych. Wyniki leczenia grupy pacjentów z przewlekłymi zakażeniami podaje Tabela 5.

Liczba chorych	Wygojenie procesu zapalnego? (średni czas obserwacji 7 miesięcy)	Wznowa
18	14	2

Tab. 5. Wyniki leczenia w grupie II
Tab. 5. Treatment outcomes in Group II

Omówienie wyników

Celem porównania osiągniętych wyników z wynikami leczenia uzyskanymi w okresie poprzedzającym stosowanie techniki wielodniowego podawania mieszaniny ozonowo-tlenowej do przestrzeni międzytkankowych w ranach pooperacyjnych, wybrano losowo z podobnego przedziału czasowego dwie grupy pacjentów:

- chorych leczonych z powodu analogicznych uszkodzeń, u których stosowano jedynie klasyczne postępowanie, tj. leczenie chirurgiczne i antybiotykoterapię,
- chorych, u których jako profilaktykę zakażenia stosowano dodatkowo gąbkę garamycynową. Profilaktykę zakażeń pourazowych z zastosowaniem gąbki garamycynowej stosuje się w Klinice Ortopedii i Rehabilitacji II W.L. od 1997 roku [40].

Opisywanej analizie poddano jedynie wyniki leczenia w grupie I, pourazowej. Wyniki podaje Tabela 6.

	Liczba chorych	Średni czas hospitalizacji /w dniach/	Średni czas stosowania antybiotyków /w dniach/	Liczba poważnych powikłań septycznych (ostitis)
Grupa leczona tradycyjnie	30	38	17	6
Grupa w której stosowano dodatkowo gąbki garamycynowe	30	21	6	2
Grupa w której stosowano dodatkowo wielodniowe insuflacje ozonem opisywaną techniką	31	19	7	1

Tab. 6. Analiza porównawcza leczonych grup chorych. Losowa grupa kontrolna: leczona tradycyjnie (01.1995÷12.1996), grupa w której stosowano gąbkę garamycynową (01.1997÷12.1999), grupa I poddana głębokiemu leczeniu ozonem (01.2000- 09.2001)

Tab. 6. Comparative analysis of patient groups. Random control group: traditional treatment (01.1995- 12.1996), treatment with local implantation of garamycine (01.1997- 12.1999), Group I under ozone therapy (01.2000- 09.2001)

Zwraca uwagę znaczne skrócenie czasu hospitalizacji i okresu stosowania antybiotykoterapii oraz dużo mniejsza liczba powikłań ropnych w grupach pacjentów, u których stosowano dodatkowe formy profilaktyki zakażeń. Podkreślić trzeba, że wyniki osiągnięte w grupie „garamycynowej” są bardzo podobne do wyników w grupie pacjentów poddanych ozonoterapii. Świadczyć to może o równie skutecznym działaniu profilaktyki ozonowej, co miejscowej aplikacji antybiotyku. Każda z tych metod ma swoje wady i zalety. Niewątpliwie jednak stosowanie drenaży ozonowych jest tańsze, gwarantuje szersze spektrum działania bakteriobójczego niż gentamycyna i ma szereg innych, wymienionych wyżej biologicznych zalet. Ma to znaczenie zwłaszcza w przypadkach pourazowych ekspozycji tkanek, gdzie nasze działania, mając charakter profilaktyczny, muszą jednocześnie zapewniać niszczenie nieznanymi drobnoustrojów. Niewątpliwą zaletą stosowania gąbek antybiotykowych jest znaczna koncentracja miejscowa leku oraz ich duża plastyczność umożliwiającą wszczepianie we wszystkie, nawet trudno dostępne, ciasne przestrzenie anatomiczne, gdzie z przyczyn technicznych niemożliwe jest stosowanie jakichkolwiek drenaży objętościowych. Stosowanie miejscowych nośników antybiotykowych nie wymaga również posiadania specjalistycznego sprzętu.

Najtrudniej jest porównywać wyniki w grupie przewlekłych stanów septycznych, a zwłaszcza wtórnych zakażeń kości. Patologie te mają tak indywidualny przebieg i tak wiele czynników ma wpływ na powodzenie w ich leczeniu, że wnioski płynące z ich porównywania są mało wiarygodne. Niemniej wydaje się, że wykazana skuteczność terapii ozonem w opisanych wyżej przypadkach pourazowych przenosić się powinna również na przewlekłe zakażenia narządu ruchu o różnej etiologii. Świadczą o tym dobre wyniki wstępne osiągnięte w tej grupie pacjentów. Skuteczność leczenia ozonem w tych przypadkach wymaga dalszych obserwacji i badań.

Ozonoterapia ma jednak z całą pewnością swoje miejsce w skojarzonym leczeniu niektórych trudnych przypadków urazowych oraz przewlekłych infekcji narządów ruchu. Nie powinna już być zatem traktowana jako metoda niekonwencjonalna.

Wnioski

1. Stosowanie zabiegów ozonoterapeutycznych wg. oryginalnej, podanej techniki wykazuje znaczną skuteczność w profilaktyce i leczeniu pourazowych powikłań infekcyjnych w obrębie narządów ruchu.
2. Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić porównywalną skuteczność miejscowej profilaktyki ozonowej i osiąganą za pomocą implantacji gąbek garamycynowych.
3. Technika wielodniowych insuflacji mieszaniną ozonowo- tlenową do przestrzeni międzytkankowych ran pooperacyjnych jest przydatna w skojarzonym leczeniu przewlekłych schorzeń septycznych tkanek miękkich i kości.
4. Zwraca uwagę obserwowana skuteczność opisanej techniki ozonoterapii u pacjentów z septycznymi powikłaniami po alloplastykach stawowych.

Piśmiennictwo

1. Żabicki W. Kształtowanie światowej strategii walki z narastaniem oporności lekowej drobnoustrojów. *Ortopedia Traumatologia Rehabilitacja* 2001, Vol.3, 1: 114- 119.
2. Dyas A, Boughton B, Das B. Ozon killing action against bacterial and fungal species. *Journal of Clinical Pathology* 1983; 36(10): 1102- 1104.

3. Schulz S. Die Ozontherapie in der Ozon-Sauerstoff-Therapie. *Ars Med* 1986; 12:5-8.
4. Sonnen GV. Ozone in medicine: Overview and future directions. Proceedings of the Ninth Ozone World Congress 1989; New York.
5. Liczmański AE. Toksyczność tlenu-uszkodzenia żywych komórek. *Post Biochem* 1988; 34:273-5.
6. Bocci V. Autohemotherapy after treatment of blood with ozone. *Journal of International Medical Research* 1994 May-Jun; 22(3): 131-144.
7. Metka M, Enzelberger H, Salzer H, Rokitansky A. Zur Frage der Teratogenität und Toxizität von medizinischem Ozon-ein stud an trachtigen Ratten. *Ozo-Nachrichten* 1988 ; 80:1-5.
8. Razumowski SD, Zaikov GE. Ozone and its reactions with organic compounds. New York: Elsevier; 1984.
9. Rilling S, Viebahn R. The use of ozone in medicine. *Karl F Hand Publ Heidelberg* 1987 : 24-9.
10. Bocci V. Ozone as a bioregulator. *Pharmacology and toxicology of ozone therapy today. Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agent* 1996; 10(2-3):31-53.
11. Kekez MM. A new ozone-based method for virus inactivation: preliminary study. *Physics in Medicine and Biology* 1997; Nov 42(11):2027-2039 .
12. Konrad H. Ozone therapy for viral diseases. In: Proceedings 10th Ozone World Congress 19-21 Mar 1991, Monaco. Zurich: International Ozone Association 1991:75-83.
13. Doroszkiewicz W. Ozone as sensitizer of bacteria to the bactericidal action of complement. *Acta Biologica Polona* 1993;42(3-4): 315-319.
14. Sonnen GV. Ozone in Medicine. *Journal of Advancement in Medicine*. 1988,Fall;1(3): 159-174.
15. Yamayoshi T. Microbicidal effects of ozone solution on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Drugs Under Experimental and Clinical Research* 1993;19(2):59-64.
16. Konrad H. Ozone therapy for herpes simplex and herpes zoster. In: International Ozone Association, ed. Proceedings Ozone in Medicine, 12th World Congress of the International Ozone Association. May 15-18 1995; Lille France: Instaprint SA Tours 1995: 187-194.
17. Burgard H. Praktische Anwendung der Ozontherapie in der Kleintierpraxis. *Biol Vet Med* 1990; 5:125-8 .
18. Jasiński A. Leczenie mieszaniną tlenowo-ozonową gronkowcowego zapalenia stawu kolanowego u królika. Praca Doktorska. ŚIAM Katowice; 1996 .
19. Vaughlin JM. Inactivation of human rotaviruses by ozone. *Appl Environ Microbiol* 1987; 53: 2218-21 .
20. Freeman BA, Mudd JB. Reaction of ozone with sulfhydryls of human erythrocytes. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 1981; April 208(1): 212-220.
21. Friedman M. Effects of ozone exposure on lipid metabolism in human alveolar macrophages. *Environmental Health Perspectives* 1992; Jul 97: 95-101 .
22. Yu BP. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiological Reviews* 1994; Jan 74(1):139-162.
23. Verrazzo G. Hyperbaric oxygen, oxygen-ozone therapy, and rheologic parameters of blood in patients with peripheral occlusive arterial disease. *Undersea and Hyperbaric Medicine* 1995; Mar 22(1): 17-22 .
24. Jakab GJ. The effects of ozone on immune function. *Environmental Health Perspectives* 1995; Mar 103 Suppl 2:77-89 .

25. Washutti J. Immunological examinations in patients with chronic conditions under administration of ozone/oxygen mixtures. *Ozone Science and Engineering* 1989; 11:411.
26. Bocci V, Paulesu L. Studies on the biological effects of ozone: induction of interferon-gamma on human leucocytes. *Haematologica* 1990; 75:510-515.
27. Antoszewski Z. Some aspects of ozone therapy. *Przegląd Lekarski* 1997; 54(7-8):561-564 .
28. Beck EG. Ozone in preventive medicine. In: International Ozone Association, ed. *Proceedings Ozone in Medicine, 12th World Congress of the International Ozone Association*. May 15-18, 1995, Lille France. Instaprint SA Tours 1995:55-62.
29. Hernandez F. Decrease of blood cholesterol and stimulation of antioxidative response in cardiopathy patients treated with endovenous ozone therapy. *Free Radical Biology and Medicine* 1995; Jul 19(1): 115-119.
30. Cardile V. Effects of ozone on some biological activities of cells in vitro. *Cell biology and Toxicology* 1995; Feb 11(1):11-21.
31. Cox KS. Prevention of pressure ulcers: a new approach. *Journal of the South Carolina Medical Association* 1998; Oct 94(10):433-435.
32. Duplaa G. Ozone therapy in the treatment of chronic ulcers of the lower extremities. *Angiologia* 1991; Mar-Apr 43(2):47-50 .
33. Bębenek M, Wawrzykiewicz M, Zagrobelny Z. Ozonoterapia w zakażeniach ran chirurgicznych. *Pol Przegl Chir* 1995; 67 (2): 212-15.
34. Lunec J. Oxygen radicals: their measurement and role in major disease. *J Int Fed Clin Chem* 1992; 58 :4-10.
35. Moszkowicz T, Antoszewski Z, Kozakiewicz J. Zastosowanie ozonoterapii w niektórych powikłanych przypadkach ortopedycznych. *Pamiętnik I Ogólnopolskiego Kongresu Pol Tow Ozonoterapii*; Katowice 1994 :117-9.
36. Valdes A. Ozone therapy in the advanced stages of arteriosclerosis obliterans. *Angiologia* 1993; Jul-Aug 45(4):146-148 .
37. Werkmeister H. Subatmospheric O₂/O₃ treatment of therapy-resistant wounds and ulcerations. *OzoNachrichten* 1985;4:53-59 .
38. Orlando PL. Pressure ulcer management in the geriatric patient. *Annals of Pharmacotherapy* 1998; Nov 32(11):1221-1227.
39. Białoszewski D, Nowak P, Michalski P. Przydatność terapii ozonem w leczeniu pourazowych i przewlekłych patologii w obrębie narządów ruchu. *Ortopedia Traumatologia Rehabilitacja* 2000, 5:104- 108.
40. Nowak P, Michalski P, Białoszewski D, Zbiewski W. Ocena skuteczności wczesnej miejscowej profilaktyki pourazowych zakażeń w leczeniu otwartych złamań kości goleni. *Chir Narz Ruchu Ortop Pol* 1998,T LXIII, Supl 2: 182- 5.